

БИОПРЕПАРАТЫ

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

Рецензируемый научно-практический журнал
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Том 16, № **1** (57)
Январь – март 2016



ISSN 2221-996X



772221996004

Безопасность биологических препаратов.

Сообщение 1. Вопросы терминологии и классификации

Менингококковая инфекция. Конъюгированные полисахаридные

менингококковые вакцины и вакцины нового поколения. Сообщение 3

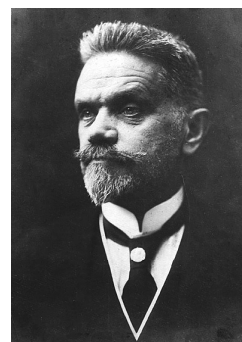
БИОПРЕПАРАТЫ

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

Рецензируемый научно-практический журнал

Том 16, №1 (57)

Январь – март 2016



Л. А. Тарасевич

Учредитель

Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы
средств медицинского
применения» Министерства
здравоохранения Российской
Федерации

Главный редактор

Олефир Ю. В.

Заместители**главного редактора**

Меркулов В. А.
Бондарев В. П.

Ответственный секретарь

Климов В. И.

Научный редактор

Лебединская Е. В.

Члены редколлегии

Аллилуев А. П.
Балаболкин И. И.
Борисевич И. В.
Воробьева М. С.
Гущин И. С.
Игнатьев Г. М.
Леви Д. Т.
Медуницын Н. В.
Мовсисянц А. А.
Мосягин В. Д.
Саяпина Л. В.
Таточенко В. К.
Ткаченко Е. А.
Хамитов Р. А.

Редакционный совет

Амвросьева Т. В. (Беларусь)
Борисевич С. В. (Сергиев Посад)
Брико Н. И. (Москва)
Волчков В. Е. (Франция)
Гинцбург А. Л. (Москва)
Дятлов И. А. (Оболensk)
Зверев В. В. (Москва)
Кутырев В. В. (Саратов)
Львов Д. К. (Москва)
Михайлов М. И. (Москва)
Покровский В. И. (Москва)
Савченко В. Г. (Москва)
Учайкин В. Ф. (Москва)
Хайтов Р. М. (Москва)
Чумаков К. М. (США)

СОДЕРЖАНИЕ**Обзоры**

- Менингококковая инфекция. Конъюгированные полисахаридные менингококковые вакцины и вакцины нового поколения. Сообщение 3**
М. В. Абрамцева, А. П. Тарасов, Т. И. Немировская **3**
- Безопасность биологических препаратов. Сообщение 1. Вопросы терминологии и классификации**
А. А. Солдатов, Ж. И. Авдеева, Ю. В. Олефир, В. А. Меркулов, В. П. Бондарев **14**
- Современное состояние лабораторной диагностики сибирской язвы: обнаружение и идентификация *Bacillus anthracis***
Л. В. Саяпина, Р. Н. Лобач, В. П. Бондарев, Н. Ф. Никитюк **27**
- Организация иммунопрофилактики лиц с нарушениями в состоянии здоровья**
Н. Ф. Никитюк, В. А. Глущенко, И. В. Панин **35**

Оригинальные статьи

- Экспериментальное изучение эффективности удаления вирусов гепатитов В, С и парвовируса В19 при фракционировании плазмы крови этиловым спиртом**
Н. В. Зубкова, М. М. Кузнецова, С. В. Зубов, Е. В. Филатова, М. Ю. Опалева **43**
- Оценка подлинности и стабильности вакцины БЦЖ методом мультиплексной ПЦР**
Д. Т. Леви, Ю. И. Обухов, Н. В. Александрова, Р. А. Волкова, Е. В. Эльберт, М. В. Альварес Фигероа, А. В. Прокопенко, Р. И. Луданный **49**

Хроника

- Правила направления, рецензирования и опубликования научных статей в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» 55**
- Людмила Федоровна Шимчук (к 70-летию со дня рождения) 62**
- Ольга Викторовна Перелыгина (к 70-летию со дня рождения). 63**
- Ирина Андреевна Алексеева (к 65-летию со дня рождения). 64**

Адрес редакции:

ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.
Тел.: +7 495 214 62 28, +7 495 214 62 28. E-mail: biopreparaty@expmed.ru.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77-53128 от 14 марта 2013 г.

Все права защищены. Любое воспроизведение опубликованных материалов без письменного согласия редакции не допускается. При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Журнал включен в наукометрическую базу данных Science Index.

Подписано в печать 17.02.2016.

Тираж 200 экз.

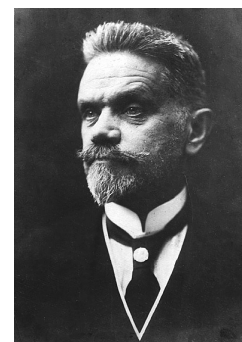
Подписной индекс **25120**

в каталоге «Газеты. Журналы» агентства «Роспечать».

Выходит один раз в три месяца.

Дизайн, верстка, печать: Издательский дом «Фолиум»





L. A. Tarasevich

Founder

Federal State Budgetary
Institution «Scientific Centre
for Expert Evaluation of Medicinal
Products» of the Ministry of Health
of the Russian Federation

Editor-in-Chief

Olefir Yu. V.

Deputy Editor-in-Chief

Merkulov V. A.
Bondarev V. P.

Executive Secretary

Klimov V. I.

Science Editor

Lebedinskaya E. V.

Editorial Board

Alliluev A. P.
Balabolkin I. I.
Borisevich I. V.
Vorobieva M. S.
Gouschin I. S.
Ignatiev G. M.
Levi D. T.
Medounitsyn N. V.
Movsesyants A. A.
Mosyagin V. D.
Sayapina L. V.
Tatochenko V. K.
Tkachenko E. A.
Khamitov R. A.

Editorial Council

Amvrosieva T. V. (Belarus)
Borisevich S. V. (Sergiev Posad)
Briko N. I. (Moscow)
Volchkov V. E. (France)
Gintsburg A. L. (Moscow)
Dyatlov I. A. (Obolensk)
Zverev V. V. (Moscow)
Kutyrev V. V. (Saratov)
Lvov D. K. (Moscow)
Mikhailov M. I. (Moscow)
Pokrovskiy V. I. (Moscow)
Savchenko V. G. (Moscow)
Uchaikin V. F. (Moscow)
Khaitov R. M. (Moscow)
Chumakov K. M. (USA)

CONTENTS

Reviews

- Meningococcal disease. Meningococcal conjugate polysaccharide vaccines and new generation vaccines. Report 3**
M. V. Abramtseva, A. P. Tarasov, T. I. Nemirovskaya 3
- Safety of biological preparations. Report 1. Terminology and classification issues**
A. A. Soldatov, Zh. I. Avdeeva, Yu. V. Olefir, V. A. Merkulov, V. P. Bondarev 14
- Current status of the laboratory diagnosis of anthrax: detection and identification of *Bacillus anthracis***
L. V. Sayapina, R. N. Lobach, V. P. Bondarev, N. F. Nikityuk 27
- Scientific and methodical approaches to organizing and conducting immunization in patients with health disorders**
N. F. Nikityuk, V. A. Glushchenko, I. V. Panin 35

Original Articles

- Experimental study of the effectiveness of the removal of virus hepatitis B, C and parvovirus B19 by the fractionation of blood plasma with ethanol**
N. V. Zubkova, M. M. Kuznetsova, S. V. Zubov, E. V. Filatova,
M. Yu. Opaleva 43
- Identity and stability assessment of BCG vaccine by multiplex PCR**
D. T. Levi, Yu. I. Obukhov, N. V. Aleksandrova, R. A. Volkova,
E. V. Elbert, M. V. Alvarez Figueroa, A. V. Prokopenko, R. I. Ludanniy 49

Chronicle

- The rules of sending, reviewing and publication of scientific articles for the journal iopreparation (Biopharmaceuticals)** 55
- Lyudmila Fedorovna Shimchuk (on the 70th anniversary)** 62
- Olga Viktorovna Pereyagina (on the 70th anniversary)** 63
- Irina Andreevna Alekseeva (on the 65th anniversary)** 64

Address of the Editorial Office:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8-2 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation. Tel.: +7 495 214 62 28, +7 495 214 62 28.
E-mail: biopreparaty@expmed.ru.

Publication is registered by the Federal Service for Supervision in the Sphere of Telecom, Information Technologies and Mass Communications. Certification of the Mass Media Registration PI No. FS77-53128 of March 14, 2013.

All rights reserved. No part of this publication may be used or reproduced in any form or by any means without the prior written permission of the Publishers. Reproducing any part of this material a reference to the journal is obligatory.

The publication data for the journal is 17.02.2016.

Printing is 200 copies.

Publication is once every 3 months.

CRC preparation and printing: Folium Publishing Company.



Менингококковая инфекция. Конъюгированные полисахаридные менингококковые вакцины и вакцины нового поколения. Сообщение 3

М. В. Абрамцева, А. П. Тарасов, Т. И. Немировская

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Поступила 15.10.2015. Принята к публикации 17.02.2016.

Несмотря на прогресс, достигнутый в области борьбы с инфекционными заболеваниями бактериальной природы, заболеваемость генерализованными формами менингококковой инфекции (ГФМИ) остается весьма актуальной проблемой для здравоохранения не только в странах с исторически сложившейся высокой заболеваемостью, но и в странах, считающихся вполне «благополучными» в отношении этой инфекции. В 60-х годах прошлого века было освоено производство высокополимерных форм полисахаридов менингококка. Эти высокомолекулярные полисахариды были использованы для разработки вакцин. С их помощью удалось весьма существенно снизить заболеваемость ГФМИ в ряде стран, в том числе в странах так называемого африканского «менингитного пояса». К сожалению, полисахаридные вакцины не лишены известных недостатков, что побудило исследователей к разработке более перспективных конъюгированных вакцин. Разработанные к настоящему времени вакцины нового поколения созданы на основе конъюгатов полисахаридов различных серогрупп с белками-носителями, такими как столбнячный анатоксин, модифицированный дифтерийный токсин (CRM₁₉₇) или белки наружной мембраны. Были разработаны и апробированы моно- и поливалентные конъюгированные вакцины. Конъюгированные вакцины обладают рядом преимуществ по сравнению с полисахаридными. Они стимулируют образование иммунологической памяти, поэтому способны обеспечивать стойкую защиту от менингококковой инфекции у детей ранней возрастной группы. В частности, весьма эффективной оказалась моновалентная конъюгированная вакцина против менингококка серогруппы C. Данная вакцина с успехом была применена в Великобритании. Известны также тетравалентные конъюгированные вакцины Menactra и Menveo. В этих препаратах использовались конъюгаты менингококковых полисахаридов серотипов A, C, W₁₃₅ и Y. Эти полисахариды стимулировали выработку бактерицидных антител у 90% иммунизированных лиц. Известного успеха также удалось достичь в области создания генно-инженерных вакцин и вакцин, сконструированных на основании везикул наружной мембраны менингококка (OMV-вакцин). OMV-вакцины продемонстрировали свою эффективность в борьбе с эпидемиями менингита, вызванными менингококком серогруппы B. Полисахаридные вакцины против менингококка серогруппы B в разных конструктивных вариантах оказывались неэффективными ввиду их низкой иммуногенности. Созданию полноценной вакцины, защищающей от ГФМИ, вызванных менингококком серогруппы B, препятствует большое разнообразие антигенных вариантов данного микроба. До настоящего времени удалось создать только штаммо-специфические вакцины, пригодные для борьбы со вспышками ГФМИ, вызванными конкретным штаммом менингококка серогруппы B. Обсуждаются перспективы повышения эффективности вакцин против менингококка серогруппы B.

Ключевые слова: штаммо-специфические менингококковые вакцины; генерализованные формы менингококковой инфекции; конъюгаты менингококковых полисахаридов; антигенные варианты менингококка.

Библиографическое описание: Абрамцева МВ, Тарасов АП, Немировская ТИ. Менингококковая инфекция. Конъюгированные полисахаридные менингококковые вакцины и вакцины нового поколения. Сообщение 3. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; 16 (1): 3–13.

Заболеваемость менингококковым менингитом и другими генерализованными формами менингококковой инфекции (ГФМИ) продолжает оставаться серьезной проблемой для здравоохранения ряда стран. В эндемической форме ГФМИ встречается у детей и подростков. Наиболее высокая заболеваемость отмечается в возрастной группе 3–12 мес. Ежегодно в мире регистрируется около 500 тыс. случаев менингококковой инфекции (МИ), 50 тыс. из которых при отсутствии адекватного лечения приводят к летальному исходу [1]. В развитых странах общий уровень смертности от менингококкового менингита обычно составляет 5–10%; в Африке — порядка 10%. Уровень летальности при быстро развивающейся септицемии может превышать 15–20% [2].

Целью настоящей работы являлось освещение этапов развития вакцинопрофилактики ГФМИ до ее современного уровня, а также определение круга проблем, стоящих перед современными исследователями.

Наиболее действенной мерой в борьбе с менингококковым менингитом (МИ) является специфическая вакци-

нация. Поэтому иммунизация с использованием безопасных и эффективных вакцин является единственным рациональным подходом в борьбе с МИ [3].

Полисахаридные вакцины, разработанные более 40 лет назад, были первыми препаратами, достаточно эффективно предотвращающими ГФМИ. В основе действия полисахаридных вакцин лежит Т-независимый иммунный ответ. При таком механизме иммунного ответа выработанная защита недолговременна и не способствует развитию иммунологической памяти. Также существенным недостатком полисахаридных вакцин является низкая эффективность иммунного ответа у детей до 2 лет, поскольку Т-независимые антигены трудно распознаваемы иммунной системой новорожденных и грудных детей [4].

Конъюгированные вакцины. Принципы конструирования

Для эффективного контроля над МИ желательно располагать вакциной, обладающей достаточной иммуногенно-

стью для лиц любого возраста. Такая вакцина должна создавать долговременную иммунологическую память и обладать бустерным эффектом. Теоретически это позволило бы обеспечивать защиту даже после снижения титра антител. Идеальная менингококковая вакцина должна также прервать циркуляцию возбудителя среди «здоровых» носителей. Этим требованиям в достаточной степени соответствуют вакцины, в которых полисахаридный антиген конъюгирован с белком-носителем [5].

При создании лицензированных конъюгированных вакцин в настоящее время используются пять белков-носителей для полисахаридного антигена. К ним относятся: столбнячный анатоксин, дифтерийный анатоксин, CRM₁₉₇ (нетоксичный дериват дифтерийного анатоксина), PRP-OMP (комплекс белков наружной мембраны *Neisseria meningitidis*) и протеин D. Все эти пять белков-носителей являются эффективными в усилении иммуногенности вакцин, но различаются по количеству и авидности антител, образование которых они стимулируют [6]. В результате конъюгации полисахарида с белком-носителем, иммунный ответ становится Т-зависимым. Распознавание полисахаридных антигенов происходит в В-клетках, параллельно происходит захват белка-носителя и его презентация Т-клеткам совместно с молекулами комплекса гистосовместимости. Т-клетки, в свою очередь, обеспечивают необходимые процессы для переключения классов антител преимущественно с IgM и IgG2 на IgG1 тип, связанный с более высоким уровнем бактерицидной активности сыворотки крови. Кроме того, имеет место прайминг для последующей ревакцинации, что выражается в очень быстром нарастании титра антител при последующей иммунизации конъюгированной вакциной. Конъюгированный антиген хорошо распознается иммунной системой младенца и стимулирует высокий антигенный ответ. Индукция Т-зависимого пути позволяет также выработать быстрый и эффективный иммунный ответ в случаях контакта с инфекционными агентами. Дополнительными преимуществами конъюгированных вакцин является создание «общественного» иммунитета при проведении массовой вакцинации детей раннего возраста и борьба с назофарингеальным носительством [4].

В последние десятилетия появились и уже используются для массовой вакцинации детей и взрослых людей конъюгированные вакцины на основе полисахаридов менингококка. С 1999 г. в мировой практике здравоохранения доступны и широко применяются менингококковые конъюгированные вакцины против МИ серогруппы С (в двух вакцинах полисахарид конъюгирован с нетоксичным дериватом дифтерийного анатоксина CRM₁₉₇ — MeningitecTM (фирмы «Wyeth Vaccines») и Menjugate (фирмы «Novartis Vaccines»), в вакцине NeisVac-CTM (фирмы «Baxter Bioscience») полисахарид конъюгирован со столбнячным анатоксином. Эти препараты используются в европейских странах, Австралии и Канаде. Фирмой «Sanofi Pasteur» разработана вакцина Menactra (содержащая полисахариды менингококка серогрупп А, С, Y и W₁₃₅, конъюгированные с дифтерийным анатоксином). С 2009 г. применяется четырехвалентная вакцина Menveo (фирмы «Novartis»), в которой полисахариды менингококка серогрупп А, С, Y и W₁₃₅ конъюгированы с CRM₁₉₇.

В декабре 2010 г. вакцина против менингококка серогруппы А, конъюгированная со столбнячным анатоксином (MenAfriVac), производства «Serum Institute of India Limited» была испытана на всей территории Буркина-Фасо и в отдельных районах Мали и Нигера. К 2011 г. число вак-

цинированных в возрасте 1–29 лет составило более 20 млн. человек. В этих странах зарегистрировано самое низкое за всю историю число подтвержденных случаев менингита серогруппы А во время эпидемического сезона.

Конъюгированная менингококковая полисахаридная вакцина группы А имеет целый ряд преимуществ по сравнению с существующими полисахаридными вакцинами: она вызывает более сильную и более устойчивую иммунную реакцию на менингококк серогруппы А; снижает носительство менингококков. Ожидается, что эта вакцина будет обеспечивать длительную защиту не только вакцинированных лиц, но и членов их семей, а также окружающих людей, которые в противном случае подверглись бы риску заболевания менингитом. Данная вакцина особенно эффективна для защиты детей в возрасте до двух лет, иммунная система которых не реагирует на чисто полисахаридные вакцины. Кроме того, высокая термостабильность вакцины позволяет использовать ее в местах проведения вакцинации без специальных мер охлаждения.

По состоянию на январь 2015 г. вакцинацией MenAfriVac было охвачено 217 млн. человек в 15 странах Африканского региона (Бенин, Буркина-Фасо, Гамбия, Кот-д'Ивуар, Камерун, Чад, Нигерия, Бенин, Гана, Сенегал, Мали, Мавритания, Судан, Того, Эфиопия). Предполагается, что к 2016 г. иммунизацией будет охвачено более 300 млн. человек в возрасте 1–29 лет в 26 странах Африканского менингитного пояса. Ожидается, что благодаря этому мероприятию эпидемии МИ серогруппы А в этом регионе Африки будут ликвидированы [7].

Конъюгированные менингококковые вакцины. Изучение иммуногенности

Через 7–10 дней после введения одной дозы конъюгированной менингококковой серогруппы С вакцины, у подростков и взрослых наблюдается подъем бактерицидной активности антител, которая достигает максимума через 2–4 недели и сохраняется у более чем 90% вакцинированных в течение пяти лет [8].

В 1999–2000 гг. в Великобритании была проведена компания по иммунизации против менингита серогруппы С с использованием моновалентных конъюгированных менингококковых серогруппы С вакцин: MeningitecTM (фирмы «Wyeth Vaccines»), NeisVac-CTM (фирмы «Baxter Bioscience»), Menjugate (фирмы «Novartis Vaccines»). Вакцины вводили детям от 1 года до 18 лет. Через 5 лет после иммунизации была проведена оценка титров бактерицидных антител. У 84% из 987 участников наблюдался титр бактерицидных антител против серогруппы С не ниже чем 1:8. Среднегеометрические величины титров бактерицидных антител были значительно ниже в возрастной группе 11–13 лет, чем в возрастных группах 14–16 лет и 17–20 лет. В пределах этих возрастных групп не наблюдалось значимого различия в среднегеометрических величинах титров лиц, иммунизированных вакцинами разных производителей [9].

У детей, иммунизированных в возрасте 6, 7, 8 и даже 9 лет, среднегеометрическая величина титров бактерицидных антител была значимо ниже, чем в группах детей, иммунизированных в возрасте 12–15 лет [9].

Таким образом, концентрация бактерицидных антител в сыворотке крови привитых, по всей видимости, находится в обратной корреляции с возрастом ребенка.

Поскольку полисахаридные вакцины неэффективны для иммунизации детей в возрасте до 2 лет, важно было

выяснить насколько иммуногенны конъюгированные полисахаридные вакцины для детей этой возрастной группы.

На основании результатов ранее проведенных исследований в Великобритании в 1999 г. была проведена трехкратная иммунизация моновалентной конъюгированной менингококковой серогруппы С вакциной, которую вводили детям трехкратно в 2, 3 и 4 месяца жизни. Вакцина оказалась высокоэффективной уже после однократного введения в возрасте 2 мес. У всех привитых уровень бактерицидных антител превышал теоретически требуемый показатель 1:8. После второй иммунизации наблюдалось заметное увеличение среднегеометрической величины титра бактерицидных антител. Третья иммунизация в возрасте 4 мес. не приводила к увеличению среднегеометрической величины титра антител. К 14 мес. жизни уровень антител падал, но дополнительное введение полисахаридной или конъюгированной полисахаридной вакцины вызывало бустерный эффект, что свидетельствует об эффективном праймировании иммунологической памяти [10].

Кампания иммунизации 1999 г. сопровождалась так называемой «иммунизацией вдогонку» до сентября 2000 г. Она была в первую очередь нацелена на те возрастные группы, в которых существовал наибольший риск заболевания. Было провакцинировано более 80% от запланированного количества лиц, подлежащих иммунизации, кроме самой старшей возрастной группы. Эффективность иммунизации была доказана по результатам ПЦР и по снижению уровня носительства менингококка серогруппы С. Количество случаев МИ серогруппы С снижалось каждый год после введения вакцинации с 954 случаев в 1998–1999 гг. до 64 случаев в 2003–2004 гг. Снижение составило 93%. Доля заболеваемости менингитом серогруппы С упала до 34,4% в 1998–1999 гг. до 4,2% в 2003–2004 гг. (рис. 2).

В другом исследовании детям в возрасте 2, 3 и 4 мес. вводилась моновалентная конъюгированная менингококковая вакцина серогруппы С в дозах 2 и 10 мкг полисахарида. В возрасте 13–16 мес. и 4 лет пациенты получали бустерную дозу, содержащую 10 мкг неконъюгированного полисахарида серогруппы С. К четвертому году жизни среднегеометрические величины титров бактерицидных антител снижались до уровня, предшествовавшего вакцинации. Среднегеометрическая величина индекса avidности антител увеличивалась до достижения у привитых возраста 13–16 мес. и оставалась постоянной до возраста 4 года. После введения бустерной дозы детям в возрасте 4 лет, в течение месяца у них существенно возрастали уровни IgG и антибактериальной активности. Интересно, что постбустерный эффект был в два раза выше для пациентов, вакцинированных дозой 2 мкг полисахарида, чем для иммунизированных 10 мкг полисахарида. Таким образом, было доказано наличие иммунологической памяти у детей в возрасте 4 лет после 3-кратной иммунизации конъюгированной вакциной [12].

На практике может возникнуть необходимость ревакцинации лиц, которые ранее уже были привиты полисахаридной менингококковой серогруппы С вакциной. Имеются свидетельства, что у таких лиц ответ на конъюгированную менингококковую серогруппы С вакцину снижен и менее длителен, а иммунологическая память формируется слабее. Тем не менее, полагают, что выраженность иммунного ответа у таких лиц достаточна для выработки протективного иммунитета, т.е. ревакцинация оправдана [3].

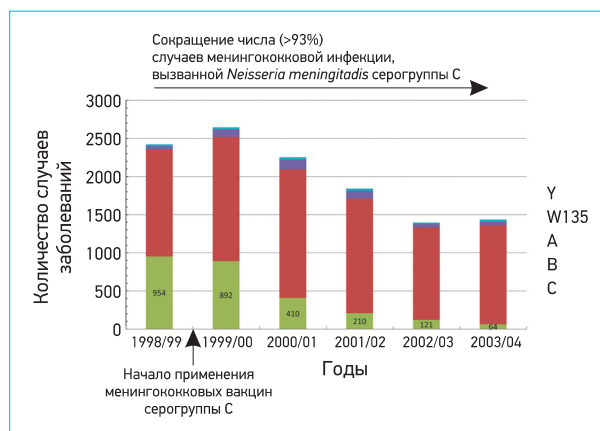


Рис. 1. Динамика заболеваемости менингококковой инфекцией, вызываемой *N. meningitidis* серогруппы С с 1998 по 2004 г. [11].

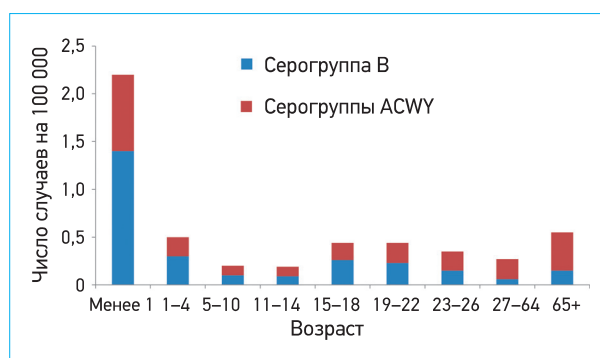


Рис. 2. Распространенность менингококка различных серогрупп по возрастным категориям в США, 2005–2013 гг. [19].

Была исследована безопасность и иммуногенность тетравалентной конъюгированной полисахаридной вакцины Menactra на 3 группах детей. Вакцинация проводилась в возрасте 2, 4 и 6 месяцев. Использовались дозы 1, 4 и 10 мкг полисахарида. Часть привитых детей в возрасте от 15 до 18 мес. подверглась ревакцинации тетравалентной полисахаридной вакциной. Через месяц после завершения иммунизации доля детей с титром антител 1:8 и выше составляла от 54 до 92%. Не было замечено статистически достоверных различий в выработке бактерицидных антител на три разные дозы. После ревакцинации полисахаридной вакциной наблюдалось увеличение титров бактерицидных антител от 5 до 170 раз, что свидетельствует о наличии иммунологической памяти [13].

В другом исследовании проводили сравнение иммунного ответа на введение конъюгированной тетравалентной вакцины Menactra и неконъюгированной тетравалентной полисахаридной вакцины у детей в возрасте от 2 до 10 лет. Оценивалась бактерицидная активность сыворотки крови до вакцинации, на 28 день и через 6 мес. после вакцинации. Показано, что наличие бактерицидных антител и процент сероконверсий были значительно выше для всех 4 серогрупп полисахаридов у детей, иммунизированных конъюгированной вакциной. Эти значительные различия сохранялись в течение 6 мес. [14].

У 75–95% подростков и взрослых, иммунизированных вакциной Menactra, протективные антитела сохранялись в течение трех лет. В группе детей, вакцинированных в воз-

расте 2–11 лет, уровень антител снижался быстрее и протективный уровень через два года сохранялся только у 15–45%. Тем не менее, показатель содержания протективных антител в этой группе был выше, чем у детей, вакцинированных неконъюгированной полисахаридной вакциной, или в контрольной группе непривитых детей [5].

С августа 2004 г. по сентябрь 2006 г. проводились исследования иммуногенности тетравалентной конъюгированной полисахаридной вакцины Menveo. В этих исследованиях приняло участие 25 детей из Великобритании и 196 из Канады. Группу детей из Великобритании иммунизировали в возрасте 2, 3 и 4 мес. вакциной Menveo или моновалентной конъюгированной вакциной серогруппы С. Часть пациентов получили только две инъекции в 2 и 4 мес. Группу детей из Канады иммунизировали вакциной Menveo в возрасте 2, 4 и 6 мес. В 12 мес. проводили повторную иммунизацию конъюгированной тетравалентной полисахаридной вакциной или полисахаридной тетравалентной вакциной. У детей, получавших инъекции в возрасте 2, 3 и 4 мес., титры антител выше чем 1:4, наблюдались для серогруппы А в 93% случаев, серогруппы С — в 96%, серогруппы W₁₃₅ — в 97%, серогруппы Y — в 94%. Для пациентов, которые получали инъекции в возрасте 2, 4 и 6 мес., аналогичный иммунный ответ был для серогруппы А в 81% случаев, серогруппы С — в 98%, серогруппы W₁₃₅ — в 99%, серогруппы Y — в 98%. Те дети, которых иммунизировали только двумя инъекциями в возрасте 2 и 4 мес., демонстрировали более низкие уровни антител против серогруппы А. Однако введение бустерной дозы вакцины Menveo в возрасте 12 мес. позволило достичь серопротективного уровня 1:4 и выше для серогрупп С, W₁₃₅, Y у 95% иммунизированных и для серогруппы А — у 84% иммунизированных лиц. Средние геометрические величины титров антител против серогруппы С в результате первичной иммунизации были выше для группы детей, иммунизированных моновалентной конъюгированной вакциной серогруппы С, чем иммунизированных вакциной Menveo. Возможное объяснение этому факту связано с тем, что вакцина Menveo содержит полисахарид серогруппы С в дозе 5 мкг, а доза моновалентной вакцины содержит 10 мкг [15].

Конъюгированные менингококковые вакцины. Эпидемиологическая эффективность

Эпидемиологическая эффективность конъюгированных менингококковых вакцин наиболее хорошо изучена в Великобритании. Заболеваемость менингитом серогруппы С в этой стране резко возросла с 1994 г. по 1998 г. За 1998–1999 гг. отмечено 1500 заболеваний менингококковым менингитом, из которых 150 случаев закончились летальным исходом [8]. В ноябре 1999 г. в национальный календарь прививок была введена вакцинация конъюгированной менингококковой вакциной серогруппы С. Первоначально вакцинировались грудные дети и подростки от 15 до 17 лет, т.е. две возрастные группы с самым высоким риском смертности от менингита серогруппы С. Подросткам вводили одну дозу вакцины, а новорожденным в возрасте 2, 3, 4 мес., наряду с рутинной иммунизацией, вводили три дозы [10].

С 2000 г. и далее дополнительная иммунизация проводилась грудным детям 5–11 мес. (2 дозы) и детям 12–23 мес. (1 доза). Вакцинация детей в возрасте от 2 до 14 лет была завершена к концу 2000 г. [8].

Был проведен активный мониторинг в установленных случаях менингита, учитывающий подтверждение серотиповой принадлежности, возраст заболевшего, а также степень охвата населения вакцинацией.

Вследствие проведения кампании вакцинации количество лабораторно подтвержденных случаев заболевания упало более чем на 90% во всех иммунизированных группах. Количество случаев заболевания в других возрастных группах сократилось на 2/3 в результате снижения уровня носительства [16].

К настоящему времени заболеваемость менингитом серогруппы С в Великобритании снизилась до рекордного уровня 0,02 на 100 тыс. населения. Согласно последним данным, эффективность краткосрочной защиты после вакцинации в детском возрасте составила 97%, через год после вакцинации она падала до 68%. Проведенная через 12 мес. повторная вакцинация приводила к образованию уровня протективных антител, которые обеспечивали защиту в течение 3 лет [17].

Эпидемиологическая эффективность вакцины Menactra окончательно не подтверждена, поскольку она применяется в странах, где эндемическая заболеваемость ГФМИ весьма низка [5].

Конъюгированные вакцины нового поколения

Кроме уже лицензированных конъюгированных вакцин создаются конъюгированные вакцины, включающие иные комбинации полисахаридов менингококков различных серогрупп (серогрупп С и Y, серогрупп А и С, серогрупп А, С и W₁₃₅, серогрупп С и Y с полисахаридом *Haemophilus influenzae* тип b (Hib) — полирибозилрибитолфосфатом (PRP) и т.п. [8].

На Филиппинах было проведено открытое рандомизированное исследование комбинированной семивалентной вакцины против дифтерии, столбняка, коклюша, гепатита В, гемофильной инфекции, менингококков серогрупп А и С (DTPw-HBV/Hib-MenAC), которую вводили детям в возрасте 6, 10 и 14 недель. Вакцину исследовали в трех вариантах, а именно изучали различные комбинации полисахаридов серогрупп А и С с PRP. Первый вариант вакцины содержал полисахариды серогрупп А, С в дозе 2,5 мкг каждый и PRP в дозе 5 мкг. Второй вариант вакцины содержал те же компоненты, но в дозе 5 мкг каждого антигена. Третий вариант вакцины включал по 5 мкг полисахаридов серогрупп А, С и 2,5 мкг PRP. Контрольную группу иммунизировали только вакциной АКДС+HBV. После первичной вакцинации 97,7% вакцинированных демонстрировали антитела против серогрупп А и С в титрах 1:8 и более. Антитела против PRP наблюдались в концентрации 0,15 мкг/мл (бактерицидный титр). Выработка ответа на компоненты АКДС и HBV не снижалась от присутствия небольших доз конъюгированных вакцин серогрупп А и С. Повторное введение полисахаридов вызывало усиленное образование антител против Hib и менингококков серогрупп А и С, что доказывало наличие иммунологической памяти [18].

К основным перспективным направлениям разработки вакцин против МИ нового поколения относят создание препаратов, требующихся при определенной эпидемической обстановке конкретных стран и регионов, а также конструирование комбинированных вакцин, уменьшающих инъекционную нагрузку на ребенка [5].

Вакцины против инфекции, вызываемой менингококками серогруппы В. Опыт разработки и перспективы создания

По мере успешной борьбы с менингитом, вызываемым менингококками серогрупп А, С, Y, и W₁₃₅, менингококки серогруппы В все чаще становятся причиной ГФМИ в развитых странах. Например, в США в 2005–2013 гг менингококк серогруппы В явно доминировал во всех возрастных группах от новорожденных до лиц старше 65 лет. При этом заболеваемость в возрастной группе до 5 лет примерно в 60% случаев была вызвана менингококком серогруппы В. Менингококки серогрупп С, Y, W₁₃₅ были причиной примерно двух из трех случаев менингококковой инфекции среди лиц 11 лет и старше (рис. 2).

Многочисленные попытки создания вакцины против менингококков серогруппы В не привели к заметному успеху.

Разработка методики выделения полисахарида серогруппы В позволила провести испытание эффективности очищенных капсульных менингококковых вакцин серогруппы В, выявившее практически полное отсутствие иммуногенности [20]. У иммунизированных людей вырабатывались только транзиторные IgM, которые характеризовались низкой аффинностью и не обладали бактерицидными свойствами [21]. Существует гипотеза о перекрестной реактивности антител к модифицированному полисахариду серогруппы В с тканевыми антигенами мозга новорожденного, в частности с гликопротеинами мозга [22]. Теоретически это может приводить к развитию у вакцинированных людей аутоиммунных заболеваний. Существует опасность перехода полисахарид В-специфических IgG-антител через гематоплацентарный барьер [22–24].

Несмотря на существующие проблемы, работы в направлении создания вакцины против менингококкового менингита серогруппы В продолжаются.

Были сделаны попытки разработки менингококковых вакцин на основе комплекса белков наружной мембраны, не содержащих эндотоксина. Теоретической предпосылкой для разработки вакцин данного направления послужили данные о том, что бактерицидные антитела к менингококку серогруппы В возможно получить только против некапсульных антигенов [25]. Первые белковые менингококковые вакцины представляли собой препарат белков наружной мембраны, экстрагированных с помощью детергента. Для удаления ЛПС экстрагированный белок осаждали этанолом, хотя это приводило только к частичному удалению эндотоксина. При испытании полученных препаратов на людях после трехкратного введения препарата не было отмечено заметной продукции бактерицидных антител. Возможной причиной неудачи считают агрегированное состояние белка [26].

Применение в качестве вакцины везикул наружной мембраны менингококка (OMV) началось W. D. Zollinger с соавторами в 1970-х гг. с разработки метода экстракции белков наружной мембраны [27, 28]. Авторы использовали водно-солевую обработку бактериальной массы различных штаммов менингококка серогруппы В, предварительно инактивированной 0,5% фенолом. Использование цетавлона вместо водно-солевой обработки приводило к значительному снижению относительного содержания белка, а также потере везикулярной структуры и иммунологической активности препарата [27].

В 1980-е гг. С. E. Frash с соавторами существенно изменили технологию получения везикулярных вакцин се-

рогруппы В. Вакцинный штамм стали культивировать в течение 72 ч в жидкой питательной среде, что в 3–4 раза повысило концентрацию везикул в среде. В результате был получен более эффективный вакцинный препарат [29]. Вакцина оказалась, по меньшей мере, в 10 раз более иммуногенной в опытах на лабораторных животных по сравнению с препаратами, приготовленными по старой технологии. У мышей и морских свинок зарегистрировали развитие вторичного иммунного ответа. В клинических исследованиях, проведенных в Кейптауне в 1981 г. с участием 4400 добровольцев, OMV-вакцина (штамм 3006, B:2a:P1.2), вводимая дважды, стимулировала выработку серотипоспецифических IgG-антител у взрослых и подростков, хотя при этом вызывала лишь 2–4-кратный прирост титров бактерицидных антител [30]. Сходные результаты были получены в начале 1980-х гг. в Норвегии при испытании под руководством L. O. Froholm OMV-вакцины, содержащей штамм M986; B:2a:P1.2. Вакцина была получена по технологии, разработанной С. E. Frash и W. D. Zollinger [31–33].

Результаты проведенных исследований свидетельствовали о формировании после введения везикулярных вакцин преимущественно серосубтипического и серотипического иммунного ответа. Кроме того, иммуногенность таких препаратов оставалась недостаточной для обоснования рекомендации их внедрения в практику. Для решения этих проблем в середине 1980-х гг. в Норвегии было проведено исследование белковой вакцины, полученной из 2 штаммов менингококка серогруппы В (штамм 8047; B:2a:P1.2 и штамм 44/76; B:15:P1.7,16). Комплекс белков наружной мембраны менингококка серогруппы В был соединен с капсульными полисахаридами менингококка серогрупп А, С, Y, и W₁₃₅, что способствовало повышению растворимости и иммуногенности вакцины [34].

Эти многолетние исследования привели к разработке одной из наиболее перспективных технологий получения эффективной и безопасной вакцины из менингококка серогруппы В, состоящей из нативного комплекса белков наружной мембраны менингококка этой серогруппы и капсульных полисахаридов других серогрупп. Важным компонентом данной технологии является выделение нативного комплекса белков наружной мембраны с помощью щадящих методов экстракции, что способствует максимальному сохранению нативной структуры комплекса мембранных белков. При разработке таких вакцин необходимо было определить оптимальный набор протективных белков наружной мембраны и обеспечить иммунную защиту от инфекции, вызванной гетерологичными серотипами и субтипами менингококка серогруппы В у людей разного возраста и на протяжении относительно длительного периода [26].

Дальнейшие исследования были направлены на оценку профилактической эффективности OMV-вакцин у взрослых и детей и определение спектра перекрестной защиты от вирулентных штаммов менингококка иной серотиповой и серосубтипической принадлежности [25, 35]. К решению этих вопросов по-разному подошли исследователи из Норвегии, Кубы и Голландии при разработке основных современных OMV-вакцин серогруппы В.

В конце 1980-х гг. Норвежским национальным институтом здоровья была создана OMV-вакцина на основе штамма 44/76 (B:15:P1.7,16), коммерческое название MenBvac. Тогда же на Кубе в Институте им. Карлоса Финлея, после успешного завершения клинических исследований, приступили к выпуску везикулярной вакцины на ос-

нове штамма CU385 (B:4:P1.15), коммерческое название VA-MENGOS-BC. До настоящего времени вакцина входит в национальный календарь прививок Кубы (для детей 3 и 5 месяцев).

В 1993 г. в Чили было проведено сравнительное изучение норвежской и кубинской вакцин. Иммунизации подверглось три группы: дети в возрасте менее 1 года (187 человек), от 2 до 4 лет (183 человека), взрослые (173 человека). Все добровольцы получили по три дозы норвежской или кубинской вакцины с перерывом в 2 мес. После введения обеих вакцин взрослым было доказано формирование перекрестнореагирующих бактерицидных антител к чилийскому штамму (B:15:P1.3,7). Обе вакцины обладали высокой иммуногенностью для детей младше 1 года. Они стимулировали четырехкратный и более прирост титров бактерицидных антител против гомологичных штаммов более чем у 90% иммунизированных лиц. Однако у детей в возрасте до 5 лет сероконверсии бактерицидных антител к гетерологичному чилийскому штамму не выявлялось. Полученные данные свидетельствуют о формировании у детей преимущественно штаммоспецифической защиты при введении OMV-вакцин [26].

Также было проведено сравнительное испытание норвежской и кубинской вакцин под контролем ВОЗ в Исландии. В испытаниях участвовали добровольцы в возрасте 15–20 лет. Вакцинацию проводили двумя или тремя дозами вакцины с интервалом 6 недель. Оказалось, что процент людей с четырехкратным нарастанием титра бактерицидных антител через 12 мес. после введения двух или трех доз кубинской вакцины составил, соответственно, 15 и 44%. Увеличение уровня бактерицидных антител после двух- или трехкратного введения норвежской вакцины было зарегистрировано, соответственно, у 17 и 68% добровольцев, кроме того норвежская вакцина в тех же испытаниях стимулировала выработку антител, обладающих бактерицидными свойствами по отношению к гетерологичным штаммам менингококка серогруппы В, чем значительно превосходила кубинскую вакцину [26].

В настоящее время существует два направления, по которым продолжается разработка новых вакцин против менингококка серогруппы В. Первое направление посвящено созданию генно-инженерных вакцин. Примером такой вакцины может служить шестивалентная OMV-вакцина Нидерландского института национального здоровья, сконструированная из двух штаммов менингококка серогруппы В. Каждый штамм экспрессирует три различных белка PorA.

После трехкратной вакцинации грудных детей наблюдался умеренный рост антител с бактерицидной активностью, некоторые формы PorA оказались слабоиммуногенными. У детей в возрасте от 1 до 2 лет, иммунизированных четырехкратно, наблюдалось усиление образования бактерицидных антител, что свидетельствовало об эффективности такой схемы иммунизации. Чтобы расширить зону защиты от менингита серогруппы В, в Институте национального здоровья Нидерландов была разработана 9-валентная OMV-вакцина, включающая три различных штамма. Все три штамма подверглись генно-инженерной модификации, в результате которой каждый штамм оказался способен синтезировать три типа молекул PorA [8].

Кроме того, в последние годы были разработаны и зарегистрированы две генно-инженерные вакцины против менингококка серогруппы В: вакцина TRUMENBA™ фирмы «Pfizer Inc» и вакцина BEXSERO® фирмы «Novartis International».

Вакцина TRUMENBA™ состоит из 2 рекомбинантных белков, связывающих фактор Н (fHBP), относящихся к двум различным подсемействам А и В. Одна доза вакцины (0,5 мл) содержит по 60 мкг каждого белка. Защитное действие против МИ в основном связано с комплемент-зависимым лизисом *Neisseria meningitidis*. Эффективность вакцины оценивают в реакции иммунного бактериолиза с комплементом сыворотки крови человека. Вакцина предназначена для людей в возрасте 10–25 лет. Проводится трехкратная иммунизация: после первого введения вакцинация повторяется через два и шесть месяцев.

В рандомизированном исследовании, проведенном в США, иммуногенность TRUMENBA™ после трехкратной иммунизации исследовалась на подростках от 11 до 18 лет. Определяли процент иммунизированных, у которых наблюдалось четырехкратное и более увеличение титра бактерицидных антител для каждого из 4 доминирующих в США штаммов. В зависимости от штамма, четырехкратное повышение титра антител при доверительном интервале 95% после третьей инъекции составляло: для штамма PMB80 — 85,3%, для штамма PMB2001 — 95%, для штамма PMB2948 — 83,4%, для штамма PMB2707 — 77%. Сходные данные для возрастной группы от 11 до 18 лет были получены также и в Европе.

В ходе клинических исследований с участием 4282 добровольцев от 11 до 25 лет, серьезные побочные явления отмечались у 88 человек (2%). Легкие побочные явления отмечались у 1049 (24,5%) иммунизированных. Наиболее часто наблюдались боль в месте инъекции и головная боль [36].

Вакцина BEXSERO® в одной дозе (0,5 мл) содержит по 50 мкг следующих рекомбинантных белков: нейссерияльный адгезин А (NadA), нейссерияльный гепарин-связывающий антиген (NHBA), белок, связывающий фактор Н (fHBP), а также 25 мкг OMV. Компонент OMV получают путем ферментации из штамма NZ98/254 (экспрессирующий PorA). Защитное действие против МИ связано с комплемент-зависимым лизисом *Neisseria meningitidis*. Эффективность вакцины оценивают в реакции иммунного бактериолиза с комплементом сыворотки крови человека. Вакцина предназначена для людей в возрасте 10–25 лет.

Иммуногенность BEXSERO® оценивалась после двукратной иммунизации на подростках и молодых людях от 11 до 24 лет. Уровень бактерицидных антител оценивали через месяц после последней иммунизации с помощью комплемент-зависимого лизиса. Для этого использовали один из трех вакцинных антигенов: fHBP, NadA, OMV (PorA p1.4), наиболее часто встречающихся в штаммах, циркулирующих на территории США. Определяли процент иммунизированных, у которых наблюдалось четырехкратное и более увеличение титров бактерицидных антител для каждого из 3 штаммов. В исследованиях, проведенных в Канаде и Австралии, четырехкратный рост антител для антигена fHBP наблюдался в 98% случаев, для NadA — в 99%, для PorA — p1.4 в 39%. В Великобритании были получены следующие данные: 78, 94 и 67% соответственно.

В трех контролируемых исследованиях с участием 2221 добровольцев несерьезные побочные явления в течение 7 дней после инъекции наблюдались в 439 случаях (20%). Серьезные побочные явления наблюдались в 2% случаев [37].

Способность вакцины BEXSERO® перекрывать существующие штаммы менингококка серогруппы В была недавно оценена в семи европейских странах при помощи системы антигенного типирования. Было оценено 1052 гипериулетных штамма менингококка. Показано, что

BEXSERO® в среднем по Европе перекрывает 78% патогенных штаммов менингококка серогруппы В. Кроме того, поскольку эта вакцина содержит антигены, присутствующие также в менингококках других серогрупп, она может предупреждать менингит, вызываемый не только менингококком серогруппы В. Имеются данные о том, что BEXSERO® позволяет вырабатывать иммунитет против менингококка серогруппы Х [38].

Однако спектр серосубтипов менингококков, циркулирующих на определенной территории, оказывается значительно шире и не совпадает с субтипами, включенными в рекомбинантные вакцины и в OMV-вакцину. Более того, применение таких препаратов может легко привести к смене субтипов и распространению в той же популяции новых штаммов менингококка серогруппы В [5].

Второе направление в разработке вакцины против МИ, вызываемой менингококком серогруппы В, — изготовление вакцины для борьбы с конкретной эпидемией или вспышкой.

В 1991 г. в Новой Зеландии началась эпидемия МИ серогруппы В. Эта эпидемия в 86% случаев была вызвана клоном менингококка В:4:P1.7b,4, NZ98/254. Для борьбы с ней была разработана штаммоспецифическая OMV-вакцина MeNZB. Вакцина была изготовлена двумя разными производителями: Норвежским национальным институтом здоровья и компанией «Novartis Vaccines». Технология производства этой вакцины совпадает с технологией норвежской вакцины MenBvac. Вакцина прошла испытания на безопасность, иммуногенность и реактогенность с участием двух групп детей от 8 до 12 лет. Первая группа (302 человека) была иммунизирована вакциной MeNZB норвежского производства или вакциной MenBvac. Вторая группа (313 человек) была иммунизирована вакциной MeNZB производства «Novartis Vaccines» или MeNZB норвежского производства. Все участники получали 3 вакцинации с интервалом в 6 недель. В первой группе достаточный иммунный ответ на вакцину MeNZB наблюдали у более чем 70% вакцинированных, но только у 16% наблюдался достаточный иммунный ответ на гетерологичную норвежскую вакцину MenBvac. У иммунизированных вакциной MenBvac, иммунный ответ на гетерологичную вакцину MeNZB зарегистрирован у 32% [33]. Этот факт послужил доказательством эффективности штаммоспецифичной вакцины. Во второй группе вакцинируемых препараты производства «Novartis Vaccines» и MeNZB норвежского национального института здоровья вызывали одинаковый уровень иммунного ответа после введения 3 доз. Вакцина MeNZB была безопасной, нереактогенной и хорошо переносилась детьми в возрасте от 8 до 12 лет [39].

В июле 2004 г. в Новой Зеландии была начата массовая вакцинация этой вакциной. Основной упор был сделан на детей в возрасте от 6 мес. до 5 лет. 62,3% детей получили 3-кратную вакцинацию. Было показано, что 3-кратная вакцинация в 5–6 раз снижает риск заболевания МИ группы В. Эффективность вакцины для детей в возрасте от 6 мес. до 3 лет составляла 84,8%, для детей в возрасте от 6 мес. до 5 лет — 80%. Всего было использовано около 3 млн. доз для лиц моложе 20 лет [40].

К июню 2008 г. рутинная вакцинация была приостановлена в виду спада заболеваемости. Теперь OMV-вакцинация в Новой Зеландии предназначается только для лиц с особыми медицинскими показаниями, включающими повышенный риск заболевания менингококковым менингитом, такими как дефицит комплемента и функциональная аспления. Заболеваемость ГФМИ в Новой Зеландии значительно снизилась [8].

Последние данные показывают: одновременная вакцинация студентов вакциной MeNZB и конъюгированной менингококковой С-вакциной хорошо переносится, вызывает образование бактерицидных антител к штаммам менингококка серогрупп С и В, приводит к снижению носительства менингококков с 40 до 21%, что открывает дополнительные перспективы вакцинопрофилактики ГФМИ [5].

Позиция ВОЗ в отношении конъюгированных менингококковых вакцин

Рекомендации ВОЗ по производству и контролю качества конъюгированной вакцины серогруппы С опубликованы в серии технических докладов ВОЗ (№ 924, 2004 г.).

Доказана безопасность и высокая эффективность конъюгированной менингококковой вакцины серогруппы С в борьбе с МИ. Поэтому необходимо рассмотреть вопрос включения конъюгированной менингококковой вакцины серогруппы С в национальные программы иммунизации в районах, где МИ, вызванная *Neisseria meningitidis* серогруппы С, является значительной проблемой общественного здравоохранения среди детей младшего возраста. Там, где заболевание у детей в возрасте старше 2 лет является основным поводом для беспокойства, или там, где экономические ресурсы ограничены, можно добиться защиты от МИ на несколько лет путем применения одной дозы комбинированной полисахаридной вакцины групп А и С [3].

Плановую вакцинацию конъюгированной менингококковой серогруппы С вакциной детей в возрасте 2, 4, 6 мес. проводят Испания (с ревакцинацией на втором году жизни), Ирландия, Канада; в Великобритании детей вакцинируют в 3, 4 мес.; в Бразилии — в 3, 5, 12 мес., в Италии — в 3, 5 и 12 мес.; в Исландии — в 2, 4 и 6 мес. В странах с низким уровнем заболеваемости ГФМИ группы С, проводят одну вакцинацию на втором году жизни: в Нидерландах — в 14 мес., в Бельгии — в 12–18 мес., в Австралии — в 12 мес., на Кипре — в 12–13 мес., в Германии — в 12–14 мес., в Швейцарии — в 12 мес. (с ревакцинацией в 11–15 лет) [41].

Для ускорения разработки новых конъюгированных вакцин серогруппы А был образован смешанный государственно-частный консорциум основных производителей вакцин и ключевых международных организаций. По сравнению с имеющимися полисахаридными вакцинами, будущие конъюгированные вакцины серогруппы А должны быть более эффективными, особенно для младенцев, снижать носительство в носоглотке и вызывать более продолжительную защиту. К сожалению, высокая цена конъюгированных вакцин, скорее всего, ограничит их использование во многих странах, наиболее сильно страдающих от менингококковой инфекции. Также имеется обеспокоенность тем, что ограниченное число производителей менингококковых вакцин снизит конкуренцию и увеличит цену вакцин. Поэтому ВОЗ поощряет проведение исследований, направленных на оптимизацию использования имеющихся полисахаридных вакцин против МИ в различных эпидемиологических условиях [3].

В настоящее время в большинстве стран имеется тенденция к все более широкому использованию конъюгированных вакцин.

Согласно инструкции по применению, конъюгированной менингококковой вакциной А, С, W₁₃₅, Y рекомендовано прививать лиц от 2 до 55 лет. В первую очередь она применяется для групп риска: лиц с дефицитами компо-

Таблица 1. Менингококковые вакцины, зарегистрированные в Российской Федерации

Наименование вакцины, производитель	Состав	Возрастная категория, дозы и способ введения
Вакцина менингококковая полисахаридная группы А, ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия	Полисахариды менингококка серогруппы А	1 доза — 25 мкг (0,25 мл) для детей 1–8 лет и 50 мкг (0,5 мл) для лиц 9 лет и старше. Подкожно
Менинго А+С, «Санофи Пастер», Франция	Полисахариды менингококка серогрупп А и С	1 доза — 50 мкг (0,5 мл) для детей с 18 мес. и взрослых. Подкожно
Менцевакс АСWУ, «ГлаксосмитКляйн», Бельгия	Полисахариды менингококка серогрупп А, С, W ₁₃₅ , Y	1 доза — 50 мкг (0,5 мл) для детей старше 2 лет и взрослых. Подкожно
Менюгейт «Новартис Вакцинс» и «Диагностикс С.р.л.», Италия	Олигосахариды менингококка серогруппы С, конъюгированные с белком CRM ₁₉₇	1 доза — 10 мкг (0,5 мл) для детей 2 мес. и старше и взрослых. Внутримышечно
Менактра, «Санофи Пастер Инк.», США	Полисахариды менингококка серогрупп А, С, W ₁₃₅ , Y конъюгированные с дифтерийным анатоксином	1 доза — по 4 мкг (0,5 мл) для детей старше 9 месяцев и взрослых до 55 лет

нентов комплемента, лиц с функциональной аспленией, микробиологов, работающих с культурой менингококков, новобранцев, путешественников, направляющихся в эндемичные по ГФМИ страны, лиц, находящихся в месте выявления вспышки МИ [8].

Вакцинация против менингококковой инфекции в Российской Федерации

В настоящее время в Российской Федерации зарегистрированы следующие менингококковые вакцины: полисахаридная вакцина группы А (ФГУП «НПО «Микроген», Россия), полисахаридная вакцина А+С («Санофи Пастер С. А.», Франция), полисахаридная тетравалентная вакцина Менцевакс А, С, Y, W₁₃₅ («ГлаксосмитКляйн Байоледжикалз», Бельгия), конъюгированная вакцина серогруппы С Менюгейт («Новартис Вакцинс Энд Диагностикс С.р.л.», Италия); конъюгированная с дифтерийным анатоксином вакцина серогрупп А, С, Y и W₁₃₅, Менактра («Санофи Пастер С. А.», Франция) (табл. 1).

В соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами (СП 3.1.2.2512–09) в Российской Федерации показанием к профилактической иммунизации с помощью менингококковой группы А полисахаридной вакцины является повышенная заболеваемость (2 случая на 100000 населения и более) в предшествующем или текущем году. Вакцинация показана в группах повышенного риска инфицирования за 2 недели до формирования коллективов (учащиеся первых курсов институтов, средних учебных заведений, временные рабочие и лица, прибывшие из разных местностей и проживающие вместе; дети старше 5 лет в организованных коллективах, круглосуточно находящиеся в условиях тесного общения и т.д.). Одним и тем же лицам повторную вакцинацию проводят не чаще 1 раза в 3 года. Профилактические прививки против МИ в Российской Федерации включены в календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям.

Профилактическую вакцинацию по эпидемическим показаниям проводят при угрозе эпидемического подъема, а именно при увеличении заболеваемости преобладающей серогруппой менингококка в два и более раз по сравнению с предыдущим годом по решению главного государственного санитарного врача Российской Федерации, главных государственных санитарных врачей субъектов Российской Федерации.

Вакцинации полисахаридной менингококковой группы А вакциной подлежат:

- дети от 1 года до 8 лет включительно;
- студенты первых курсов средних и высших учебных заведений, прежде всего в коллективах, укомплектованных учащимися из разных регионов страны и зарубежных стран.

При продолжающемся росте заболеваемости МИ число прививаемых лиц по эпидемическим показаниям должно быть расширено за счет:

- учащихся с 3 по 11 классы;
- взрослого населения при обращении в лечебно-профилактические организации для проведения иммунизации против МИ.

Выводы

1. Вакцинопрофилактика ГФМИ является самой эффективной мерой в борьбе с этим и заболеваниями.
2. Созданы эффективные конъюгированные вакцины против самых распространенных серогрупп *N. meningitidis*.
3. Новые конъюгированные белково-полисахаридные вакцины в отличие от полисахаридных не только позволяют создавать достаточный уровень иммунитета, но также стимулируют формирование иммунологической памяти.
4. Вакцины против менингококков серогрупп А, С, W₁₃₅, Y позволяют снизить заболеваемость ГФМИ в отдельных странах до нескольких случаев в год.
5. В мировой практике существуют достаточно эффективные вакцины против менингококка серогруппы В. К числу их недостатков относится ограниченный штамм-специфический защитный эффект.

Литература

1. Гречуха ТА, Галицкая МГ. Особо опасные инфекции: менингококковая инфекция и способы ее профилактики. *Практика педиатра* 2012; (6): 5–9.
2. Абрамцева МВ, Тарасов АП, Немировская ТИ. Менингококковая инфекция. Полисахаридные менингококковые вакцины. Исторические аспекты и современное состояние разработок. *Биопрепараты* 2015; (3): 25–32.
3. World Health Organization. Meningococcal vaccines: WHO position paper. *Weekly epidemiological record*. 2011; 86: 521–40.
4. Федосеев МВ, Галицкая МГ, Намазова ЛС. Эпоха конъюгированных вакцин: международный опыт успешного применения. *Педиатрическая фармакология* 2008; 5(6): 8–14.
5. Платонов АЕ, Харит СМ, Платонова ОВ. Вакцинопрофилактика менингококковой инфекции в мире и в России. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика* 2009; 5: 32–46.

6. Pichichero ME. Protein carriers of conjugate vaccines Characteristics, development, and clinical trials. *Hum Vaccin Immunother*. 2013; 9(12): 2505–23.
7. World Health Organization. Mediacenter. Meningococcal Meningitis. Fact Sheet № 141 updated February 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en>.
8. Granoff DM, Harrison LH, Borrow R. Meningococcal vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA. Vaccines. 6th edition. Saunders: Elsevier; 2013. P. 389–418.
9. Snape MD, Kelly DF, Lewis S. Seroprotection against serogroup C meningococcal disease in adolescents in the United Kingdom: observational study. *Brit Med J*. 2008; 336: 1487–91.
10. Borrow R, Goldblatt D, Finn A. Immunogenicity of, and immunologic memory to, a reduced primary schedule of meningococcal C-tetanus toxoid conjugate vaccine in infants in the United Kingdom. *Infect Immun*. 2003; 71: 554–5.
11. Gray SG, Trotter CT, Ramsay ME, Guiver M, Fox AJ, Borrow R, Mallard RH, Kaczmarek EB. Epidemiology of meningococcal disease in England and Wales 1993 / 94 to 2003 / 04: contribution and experiences of the Meningococcal Reference Unit. *J Med Microbiol* 2006; 55: 887–96.
12. Borrow R, Goldblatt D, Andrews N, Southern J, Ashton L, Deane S. Antibody persistence and immunological memory at age 4 years after meningococcal group C conjugate vaccination in children in the United Kingdom. *J Infect Dis*. 2002; 186: 1353–7.
13. Rennels M, King J, Jr, Ryall R. Dosage escalation, safety and immunogenicity study of four dosages of a tetravalent meningococcal polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2004; 23: 429–35.
14. Pichichero M, Casey J, Blatter M. Comparative trial of the safety and immunogenicity of quadrivalent (A, C, Y, W-135) meningococcal polysaccharide-diphtheria conjugate vaccine versus quadrivalent polysaccharide vaccine in two- to ten-year-old children. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24: 57–62.
15. Snape MD, Perrett KP, Ford KJ. Immunogenicity of a tetravalent meningococcal vaccine in infants: a randomized trial. *J Amer Med Ass*. 2008; 299(2): 173–84.
16. Maiden MC, Ibarz-Pavon AB, Urwin R. Impact of meningococcal serogroup C conjugate vaccines on carriage and herd immunity. *J Infect Dis*. 2008; 197(5): 737–43.
17. Campbell H, Andrews N, Borrow R. Updated post-licensure surveillance of meningococcal C conjugate vaccine in England and Wales: effectiveness, validation of serological correlate of protection and modeling predictions of the duration of herd immunity. *Clin Vaccine Immunol*. 2010; 17: 840–7.
18. Gatchalian S, Palestroque E, de Vleeschauwer I. The development of a new heptavalent diphtheria-tetanus-whole cell pertussis — hepatitis B — Haemophilus influenzae type B — Neisseria meningitidis serogroups A and C vaccine: a randomized dose-ranging trial of the conjugate vaccine components. *Int J Infect Dis*. 2008; 12: 278–88.
19. CDC. Meningococcal Home Surveillance Systems National Notifiable Disease Surveillance Systems and Active Bacterial Core surveillance. Available from <http://www.cdc.gov/meningococcal/surveillance/>.
20. Wyle FA, Artenstein MS, Brand BL, Tramont EC. Immunological response of man to group B meningococcal polysaccharide vaccines. *J Infect Dis*. 1972; 126: 514–22.
21. Zollinger WD, Mandrell RE. Importance of complement source in bactericidal activity of human antibody and murine monoclonal antibody to meningococcal group B polysaccharide. *Infect Immun*. 1983; 40: 257–64.
22. Hayrinnogen J, Jenninns HJ, Raff HV, Rougon G. Antibodies to polysialic acid and its N-propyl derivative: binding properties and interaction with human embryonal brain glycopeptides. *J Infect Dis*. 1995; 171: 1481–90.
23. Poolman JT. Development of a meningococcal vaccine. *Infect Agents Dis*. 1995; 4: 13–28.
24. Zollinger WD, Moran E. Meningococcal vaccines — present and future. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*. 1991; 85(Suppl. 1): 37–43.
25. Frasch CE. Vaccines for prevention of meningococcal disease. *Clin Microbiol Rev*. 1989; 2 (Suppl): 134–8.
26. Дельвиц АА, Семенов БФ, Розенквист Э, Робинсон ДГ. *Neisseria meningitidis: от антигенной структуры к новому поколению вакцин*. М.: Медицина; 2000.
27. Zollinger WD, Kasper DL, Veltri BJ, Artenstein MS. Isolation and characterization of a native cell wall complex from *Neisseria meningitidis*. *Infect Immun*. 1972; (6): 835–51.
28. Zollinger WD, Mandrell RE, Altieri P, Berman S. Safety and immunogenicity of a *Neisseria meningitidis* type 2 protein vaccines in animals and humans. *J Infect Dis*. 1978; 137: 728–39.
29. Frasch CE, Peppier MS. Protection against group B *Neisseria meningitidis* disease: Preparation of soluble protein and protein-polysaccharide immunogens. *Infect Immun*. 1982; 37: 271–80.
30. Frasch CE, Coetzee GJ, Zahradnik JM, Feldman HA. Development and evaluation of group B serotype 2 protein vaccines: report of a group B field trial. *Med Trop*. 1983; 43: 177–83.
31. Froholm LO, Berdal BP, Bovre K, Gaustad P. Meningococcal group B vaccine trial in Norway Preliminary report of results available November 1983. *NIPH Ann*. 1983; (6): 133–8.
32. Rosenqvist E, Tjader T, Froholm LO, Frasch CE. An ELISA study of the antibody response after vaccination with a combined meningococcal group B polysaccharide and serotype 2 outer membrane protein vaccine. *NIPH Ann*. 1983; (6): 139–49.
33. Wedge E, Froholm LO. Human antibody response to a group B serotype 2a meningococcal vaccine determined by immunoblotting. *Infect Immun*. 1986; 51: 571–8.
34. Rosenqvist E, Harthug S, Froholm LO, Hoiby EA. Antibody responses to serogroup B meningococcal outer membrane antigens after vaccination and infection. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1543–8.
35. Poolman JT. Clinical trials with outer membrane protein vaccines and PorA recombinant vaccines. In: Zollinger WD, Frasch CE, Deal CD, eds. *Proceedings of the 10 International Pathogenic Neisseria Conference*. 1996. P. 117–22.
36. Highlights of Prescribing Information Trumenba (meningococcal group B Vaccine). 2014. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM421139.pdf>.
37. Highlights of Prescribing Information Bexsero (meningococcal group B Vaccine). 2015. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM431447.pdf>.
38. Panatto D, Amicizia D, Lai PL, Cristina ML, Domnich A, Gaspsirini R. New versus old meningococcal Group B vaccines: How the new ones may benefit infants & toddlers. *Indian J Med Res*. 2013; 138(6): 835–46.
39. Hosking J, Rasanathan K, Mow FC. Immunogenicity, reactogenicity, and safety of a P1.7b,4 strain-specific serogroup B meningococcal vaccine given to preteens. *Clin Vaccine Immunol*. 2007; 14: 1393–9.
40. Galloway Y, Stehr-Green P, McNicholas A, O'Hallahan J. Use of an observational cohort study to estimate the effectiveness of the New Zealand group B meningococcal vaccine in children aged under 5 years. *Int J Epidemiol*. 2009; 38: 413–8.
41. Annual WHO/UNICEF Joint Reporting Form updated 2014. Available from: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/schedule_data.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.

Абрамцева Марина Витальевна. Эксперт 1-й категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП.

Тарасов Андрей Павлович. Эксперт 1-й категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Немировская Татьяна Ивановна. Начальник лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Адрес для переписки: Абрамцева Марина Витальевна; Abramtceva@expmed.ru

Meningococcal disease. Meningococcal conjugate polysaccharide vaccines and new generation vaccines. Report 3

M. V. Abramtseva, A. P. Tarasov, T. I. Nemirovskaya

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Despite the progress in fighting against infectious diseases of bacterial origin, the incidence of generalized forms of meningococcal infection (GFMI) remains a topical public health problem not only in countries with historical high incidence, but also in countries considered to be relatively «secured» in regard to the mentioned infection. In the 60s of the last century the production of high-polymer forms of meningococcal polysaccharides was started. These high molecular weight polysaccharides were used for the development of vaccines. They helped to significantly reduce the incidence of GFMI in certain countries, including the countries of the so-called African «meningitis belt». Unfortunately, polysaccharide vaccines have well-known deficiencies, prompting the researchers to develop advanced conjugate vaccines. Current new generation of vaccines are based on conjugates of polysaccharides of different serogroups with carrier proteins such as tetanus toxoid, a modified diphtheria toxin (CRM₁₉₇) or outer membrane proteins. Mono- and multivalent conjugate vaccines were developed and tested. Conjugate vaccines have several advantages compared to the polysaccharide vaccines. They stimulate the formation of immunological memory, and therefore are able to provide consistent protection against meningococcal disease in children of an early age group. In particular, monovalent conjugate vaccine against serogroup C meningococcal disease were proven to be very effective. This vaccine was successfully used in the UK. There are also tetravalent conjugate vaccines Menactra and Menveo. These preparations consist of serotype A, C, W₁₃₅ and Y meningococcal polysaccharide conjugates. These polysaccharides stimulated the production of bactericidal antibodies in 90% of immunized individuals. Certain success was also achieved in developing genetically engineered vaccines and the vaccines based in meningococcal outer membrane vesicles (OMV-vaccines). OMV-vaccines showed to be effective in the fight against epidemics of meningitis caused by serogroup B meningococcus. Polysaccharide vaccines against serogroup B meningococcus in different designs proved to be ineffective because of their low immunogenicity. There are certain difficulties in developing an ultimate vaccine that protects against GFMI, due to the fact that there is a variety of antigenic types of serogroup B meningococcus. So far the scientists only have managed to develop a strain-specific vaccine suitable for fighting GFMI outbreaks, caused by the specific strain of serogroup B meningococcus. The opportunities to enhance the efficacy of vaccines against serogroup B meningococcus are still being discussed.

Key words: meningococcal disease; generalized forms of meningococcal infection; conjugate vaccines; polysaccharide vaccines; strain-specific protective effect.

For citation: Abramtseva MV, Tarasov AP, Nemirovskaya TI. Meningococcal disease. Meningococcal conjugate polysaccharide vaccines and new generation vaccines. Report 3. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16 (1): 3–13.

References

1. Grechuha TA, Galitskaya MG. Particularly dangerous infections: meningococcal infection and ways of its prevention. *Praktika pediatrii* 2012; (6): 5–9 (in Russian).
2. Abramtseva MV, Tarasov AP, Nemirovskaya TI. Meningococcal disease. Polysaccharide meningococcal vaccines. The historical aspects and the current state of vaccine development. Report 2. *Biopreparaty* 2015; (3): 25–32 (in Russian).
3. World Health Organization. Meningococcal vaccines: WHO position paper. *Weekly epidemiological record*. 2011; 86: 521–40.
4. Fedoseenko MV, Galitskaya MG, Namazova LS. The era of conjugate vaccines: the international experience of successful application. *Pediatricheskaya farmakologiya* 2008; 5(6): 8–14 (in Russian).
5. Platonov AE, Harit SM, Platonova OV. Vaccine meningococcal disease in the world and in Russia. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika* 2009; 5: 32–46 (in Russian).
6. Pichichero ME. Protein carriers of conjugate vaccines Characteristics, development, and clinical trials. *Hum Vaccin Immunother*. 2013; 9(12): 2505–23.
7. World Health Organization. Mediacenter. Meningococcal Meningitis. Fact Sheet № 141 updated February 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en>.
8. Granoff DM, Harrison LH, Borrow R. Meningococcal vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA. *Vaccines*. 6th edition. Saunders: Elsevier; 2013. P. 389–418.
9. Snape MD, Kelly DF, Lewis S. Seroprotection against serogroup C meningococcal disease in adolescents in the United Kingdom: observational study. *Brit Med J*. 2008; 336: 1487–91.
10. Borrow R, Goldblatt D, Finn A. Immunogenicity of, and immunological memory to, a reduced primary schedule of meningococcal C-tetanus toxoid conjugate vaccine in infants in the United Kingdom. *Infect Immun*. 2003; 71: 554–5.
11. Gray SG, Trotter CT, Ramsay ME, Guiver M, Fox AJ, Borrow R, Mallett RH, Kaczmarek EB. Epidemiology of meningococcal disease in England and Wales 1993/94 to 2003/04: contribution and experiences of the Meningococcal Reference Unit. *J Med Microbiol*. 2006; 55: 887–96.
12. Borrow R, Goldblatt D, Andrews N, Southern J, Ashton L, Deane S. Antibody persistence and immunological memory at age 4 years after meningococcal group C conjugate vaccination in children in the United Kingdom. *J Infect Dis*. 2002; 186: 1353–7.
13. Rennels M, King J Jr, Ryall R. Dosage escalation, safety and immunogenicity study of four dosages of a tetravalent meningococcal polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2004; 23: 429–35.
14. Pichichero M, Casey J, Blatter M. Comparative trial of the safety and immunogenicity of quadrivalent (A, C, Y, W-135) meningococcal polysaccharide-diphtheria conjugate vaccine versus quadrivalent polysaccharide vaccine in two- to ten-year-old children. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24: 57–62.
15. Snape MD, Perrett KP, Ford KJ. Immunogenicity of a tetravalent meningococcal vaccine in infants: a randomized trial. *J Amer Med Ass*. 2008; 299(2): 173–84.
16. Maiden MC, Ibarz-Pavon AB, Urwin R. Impact of meningococcal serogroup C conjugate vaccines on carriage and herd immunity. *J Infect Dis*. 2008; 197(5): 737–43.
17. Campbell H, Andrews N, Borrow R. Updated post-licensure surveillance of meningococcal C conjugate vaccine in England and Wales: effectiveness, validation of serological correlate of protection and modeling predictions of the duration of herd immunity. *Clin Vaccine Immunol*. 2010; 17: 840–7.
18. Gatchalian S, Palestroque E, de Vleeschauwer I. The development of a new heptavalent diphtheria-tetanus-whole cell pertussis — hepatitis B — *Haemophilus influenzae* type B — *Neisseria meningitidis* serogroups A and C vaccine: a randomized dose-ranging trial

- of the conjugate vaccine components. *Int J Infect Dis.* 2008; 12: 278–88.
19. CDC. Meningococcal Home Surveillance Systems National Notifiable Disease Surveillance Systems and Active Bacterial Core surveillance. Available from <http://www.cdc.gov/meningococcal-surveillance/>.
 20. Wyle FA, Artenstein MS, Brand BL, Tramont EC. Immunological response of man to group B meningococcal polysaccharide vaccines. *J Infect Dis.* 1972; 126: 514–22.
 21. Zollinger WD, Mandrell RE. Importance of complement source in bactericidal activity of human antibody and murine monoclonal antibody to meningococcal group B polysaccharide. *Infect Immun.* 1983; 40: 257–64.
 22. Hayrinnen J, Jenninngs HJ, Raff HV, Rougon G. Antibodies to polysialic acid and its N-propyl derivative: binding properties and interaction with human embryonal brain glycopeptides. *J Infect Dis.* 1995; 171: 1481–90.
 23. Poolman JT. Development of a meningococcal vaccine. *Infect Agents Dis.* 1995; 4: 13–28.
 24. Zollinger WD, Moran E. Meningococcal vaccines — present and future. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1991; 85(Suppl. 1): 37–43.
 25. Frasch CE. Vaccines for prevention of meningococcal disease. *Clin Microbiol Rev.* 1989; 2 (Suppl): 134–8.
 26. Delvig AA, Semenov BF, Rosenqvist E, Robinson DG. *Neisseria meningitidis*: from the antigenic structure to the next generation of vaccines. Moscow: Meditsina; 2000 (in Russian).
 27. Zollinger WD, Kasper DL, Veltri BJ, Artenstein MS. Isolation and characterization of a native cell wall complex from *Neisseria meningitidis*. *Infect Immun.* 1972; (6): 835–51.
 28. Zollinger WD, Mandrell RE, Altieri P, Berman S. Safety and immunogenicity of a *Neisseria meningitidis* type 2 protein vaccines in animals and humans. *J Infect Dis.* 1978; 137: 728–39.
 29. Frasch CE, Peppier MS. Protection against group B *Neisseria meningitidis* disease: Preparation of soluble protein and protein-polysaccharide immunogens. *Infect Immun.* 1982; 37: 271–80.
 30. Frasch CE, Coetzee GJ, Zahradnik JM, Feldman HA. Development and evaluation of group B serotype 2 protein vaccines: report of a group B field trial. *Med Trop.* 1983; 43: 177–83.
 31. Froholm LO, Berdal BP, Bovre K, Gaustad P. Meningococcal group B vaccine trial in Norway Preliminary report of results available November 1983. *NIPH Ann.* 1983; (6): 133–8.
 32. Rosenqvist E, Tjæde T, Froholm LO, Frasch CE. An ELISA study of the antibody response after vaccination with a combined meningococcal group B polysaccharide and serotype 2 outer membrane protein vaccine. *NIPH Ann.* 1983; (6): 139–49.
 33. Wedege E, Froholm LO. Human antibody response to a group B serotype 2a meningococcal vaccine determined by immunoblotting. *Infect Immun.* 1986; 51: 571–8.
 34. Rosenqvist E, Harthug S, Froholm LO, Hoiby EA. Antibody responses to serogroup B meningococcal outer membrane antigens after vaccination and infection. *J Clin Microbiol.* 1988; 26: 1543–8.
 35. Poolman JT. Clinical trials with outer membrane protein vaccines and PorA recombinant vaccines. In: Zollinger WD, Frasch CE, Deal CD, eds. *Proceedings of the 10 International Pathogenic Neisseria Conference.* 1996. P. 117–22.
 36. Highlights of Prescribing Information Trumenba (meningococcal group B Vaccine). 2014. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM421139.pdf>.
 37. Highlights of Prescribing Information Bexsero (meningococcal group B Vaccine). 2015. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM431447.pdf>.
 38. Panatto D, Amicizia D, Lai PL, Cristina ML, Domnich A, Gaspsrini R. New versus old meningococcal Group B vaccines: How the new ones may benefit infants & toddlers. *Indian J Med Res.* 2013; 138(6): 835–46.
 39. Hosking J, Rasanathan K, Mow FC. Immunogenicity, reactogenicity, and safety of a P1.7b,4 strain-specific serogroup B meningococcal vaccine given to preteens. *Clin Vaccine Immunol.* 2007; 14: 1393–9.
 40. Galloway Y, Stehr-Green P, McNicholas A, O'Hallahan J. Use of an observational cohort study to estimate the effectiveness of the New Zealand group B meningococcal vaccine in children aged under 5 years. *Int J Epidemiol.* 2009; 38: 413–8.
 41. Annual WHO/UNICEF Joint Reporting Form updated 2014. Available from: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/schedule_data.

Authors

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8–2 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Abramtseva MV. 1st category expert of Laboratory of bacterial vaccines of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations.

Tarasov AP. 1st category expert of Laboratory of bacterial vaccines of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Biological Sciences.

Nemirovskaya TI. Head of Laboratory of bacterial vaccines of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Medical Sciences.

Безопасность биологических препаратов. Сообщение 1. Вопросы терминологии и классификации

А. А. Солдатов, Ж. И. Авдеева, Ю. В. Олефир, В. А. Меркулов, В. П. Бондарев

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Поступила 29.01.2015. Принята к публикации 17.02.2016.

Применение лекарственных средств сопровождается развитием побочных реакций (ПР). Для объективного анализа причин и механизмов их развития, с целью разработки методов купирования и предупреждения ПР, необходимо использовать стандартные критерии для характеристики ПР. Обычно, описание ПР включает указание поврежденного органа или ткани и частоту развития ПР. Для характеристики ПР на низкомолекулярные химические препараты предложена А/В классификация и ее модификации, основанная на возможных механизмах развития ПР. Биологические препараты отличаются от химических препаратов по ряду параметров, в том числе и по механизму действия. Учитывая особенности биологических (биотехнологических) препаратов, было предложено несколько классификаций ПР, вызываемых данной группой препаратов. Наиболее популярной является предложенная W. J. Pichler классификация ПР биологических препаратов, основанная на участии иммунологических механизмов в развитии ПР. Данная классификация делит ПР биологических препаратов на 5 типов: тип α (реакции, обусловленные высоким уровнем цитокинов), тип β (реакции гиперчувствительности), тип γ (реакции, вызванные нарушением баланса факторов иммунитета), тип δ (развитие реакций перекрестной реактивности) и тип ε (реакции, обусловленные неиммунологическими механизмами). В качестве недостатков данной классификации следует указать то, что она распространяется не на все биологические препараты, а только на лекарственные препараты, включающие цитокины, гормоны и препараты моноклональных антител, и не учитывает ПР, развивающиеся без участия иммунных механизмов (например, повышение артериального давления при применении препаратов рекомбинантных эритропоэтинов).

Ключевые слова: побочные реакции на препараты; нежелательные явления на препараты; классификация побочных реакций; аллергические реакции на препараты; лекарственная аллергия; реакции гиперчувствительности на препараты; биологические препараты; биотехнологические препараты.

Библиографическое описание: Солдатов АА, Авдеева ЖИ, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Бондарев ВП. Безопасность биологических препаратов. Сообщение 1. Вопросы терминологии и классификации. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; 16 (1): 14–26.

До 1980-х годов биологические лекарственные средства были представлены в основном иммунобиологическими препаратами (препаратами, используемые для профилактики и диагностики) и единичными препаратами, применяемыми для терапии, такими как свиной или бычий инсулин. В 1980-х годах были разработаны методы генной инженерии, позволяющие получать белки с заданными свойствами, что явилось началом нового этапа производства биологических препаратов. С использованием новых биотехнологических методов было разработано большое количество разнообразных биологических препаратов (гормоны, цитокины, препараты моноклональных антител, факторы свертывания крови, аллергены и вакцины на основе технологии рекомбинантной ДНК и др.), которые широко и успешно применяются для диагностики, профилактики и лечения, в первую очередь, тяжелых хронических заболеваний (онкологические, аутоиммунные, наследственные, инфекционные и др.). Выход в практику новых препаратов привел и к появлению новых проблем, в первую очередь, связанных с безопасностью.

Разработка и производство современных лечебных биотехнологических лекарственных средств является относительно молодым направлением фарминдустрии, поэтому многие методологические проблемы данного направления еще до конца не разработаны, в том числе, и вопросы безопасности биологических (биотехнологических) препаратов. В работе представлен критический анализ вопросов, касающихся терминологии и классифи-

кации побочных реакций, вызываемых данными препаратами.

Биологические препараты

Единая общепризнанная классификация биологических препаратов отсутствует. В нормативных документах США и многих стран приводится просто перечисление основных биологических препаратов без разделения на подгруппы. Например, в основном документе США, регламентирующем оборот лекарственных средств (Public Health Services Act 42 U. S. C. § 262(i)), указано, что «биологическими препаратами являются вирусы, лечебные сыворотки, токсины, антитоксины, вакцины, кровь, ее компоненты или производные, аллергены, которые применяются для профилактики, лечения и диагностики заболеваний», а также аналогичные препараты. Под аналогичными препаратами следует понимать новые виды (типы) биологических препаратов, которые еще не разработаны, но могут быть разработаны в будущем [1]. В данном случае аналогичные не следует путать с биоаналоговыми (биоподобными) препаратами, которыми в Российской Федерации неудачно были названы препараты группы «biosimilars».

В законодательных документах стран ЕС, с учетом особенностей производства и изучения свойств отдельных групп препаратов, биологические препараты делятся на 3 группы: препараты на основе плазмы крови или компонентов плазмы, биологические (биотехнологические)

препараты и препараты передовой терапии (клеточной терапии и др.) [2].

После разработки первых генно-инженерных препаратов в течение 20 лет было зарегистрировано около 200 новых биотехнологических препаратов и еще значительно большее количество препаратов находится на разных стадиях разработки. Учитывая, что для получения данных препаратов используются единые подходы, биотехнологические препараты были выделены в отдельную группу. Среди биологических препаратов стали выделять две большие группы препаратов: первая группа (биологические) представлена препаратами, полученными с использованием традиционных методов производства иммунобиологических препаратов (вакцины, сыворотки, аллергены и др.); во вторую группу (биотехнологические) включены препараты, получаемые с использованием методов генной инженерии. При этом большинство препаратов второй группы разработаны для терапии, а не профилактики заболеваний, поэтому препараты данной группы еще называют биотерапевтическими белками.

Для оценки безопасности биотехнологических препаратов было предложено разделить их на 3 группы, в зависимости от их биологических свойств: гормоны, цитокины и препараты моноклональных антител (мАТ). Или аналогичное, но более подробное деление на группы: гормоны, цитокины, факторы роста гемопоэза, препараты мАТ, препараты на основе слитных или гибридных белков и др. [3].

Наиболее удачной явилась классификация на основе механизмов действия биотехнологических препаратов, предложенная В. Leader с соавт. [4]. Согласно данной классификации препараты можно разделить на 4 группы: препараты, обладающие ферментативной или регулирующей активностью; препараты с направленной (таргетной) активностью; вакцины и диагностические препараты. Кро-

ме того, в каждой группе препараты делятся на подгруппы (табл. 1).

Авторы приведенной таблицы указывают, что классификация разработана для препаратов, полученных с использованием генно-инженерных технологий, что вызывает ряд вопросов. Например, если VIII и IX факторы свертывания крови получают путем выделения из плазмы крови и с использованием технологии рекомбинантной ДНК, то это все равно разные препараты? Кроме того, практически все современные препараты, получаемые из природного сырья с использованием современных методов очистки (VIII и IX факторы свертывания крови, инсулин, аллергены, вакцины, высокомолекулярный гепарин и др.), обладают высоким качеством и полностью охарактеризованы с помощью современных методов анализа и международных стандартов, и, соответственно, непонятно почему они не могут быть включены в данную классификацию?

Разделение препаратов на биологические и биотехнологические было обусловлено, в первую очередь, различиями производственного процесса получения препаратов и регуляторных требований для данных групп препаратов.

Считается, что к биотехнологическим относятся препараты, получаемые с использованием генно-инженерных технологий. Однако биотехнология – это использование живых систем или живых организмов для производства или изменения свойств биологических продуктов (препаратов). В документе Комиссии по гармонизации технических требований (ICH, 1995) указано, что к биотехнологическим препаратам могут быть отнесены препараты «которые содержат хорошо охарактеризованные белки и полипептиды или их производные, или являются их компонентами, и которые получены из тканей или жидкостей организма, клеточных культур или с использованием технологии рекомбинантной ДНК» [5].

Таблица 1. Классификация биотехнологических препаратов, предложенная В. Leader с соавт. [4]

Группа препаратов	Подгруппа препаратов	Примеры препаратов
Группа I (препараты, обладающие ферментативной или регулирующей активностью)	Ia (препараты заместительной терапии при дефиците или нарушении нормального синтеза эндогенного белка)	Инсулин, VIII и IX факторы свертывания крови, гормон роста, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, эритропоэтин, антитромбин III, α -галактозидаза А, лактоза, ферменты поджелудочной железы, интерферон, иммуноглобулины и др.
	Ib (участвующие в каскаде реакций(активирующие))	Тканевой активатор плазминогена, протеин С, урокиназа, VIIa фактор свертывания крови и др.
	Ic (вызывающие эффекты, не характерные для эндогенных белков)	Токсин ботулина тип А и В, коллагеназа, гиалуронидаза, L-аспарагиназа, стрептокиназа и др.
Группа II (препараты с направленной (таргетной) активностью)	IIa (взаимодействующие с молекулами и лигандами «мишеней»)	Препараты мАТ специфичных CD20, CD52, EGFR, HER 2/Neu, антагонист рецептора ИЛ-1 и др.
	IIb (доставляющие действующие вещества к «мишеням»)	Ontak (доставляет дифтерийный токсин к клеткам, экспрессирующим ИЛ-2), Ibritumomab Tiuxetan (доставляет иттрий-90 к клеткам, экспрессирующим CD20) и др.
Группа III (вакцины)	IIIa (профилактические вакцины)	Рекомбинантная вакцина против гепатита В
	IIIb (вакцины для лечения аутоиммунных заболеваний)	Антирезус D иммуноглобулин
	IIIc (вакцины для лечения рака)	Вакцина против неходжкинской лимфомы на основе антигенов, полученных от трансгенных растений (<i>Nicotiana benthamiana</i>)
Группа IV (диагностические препараты)		Соматотропин-релизинг-гормон, тиреотропин-релизинг-гормон, Myoscint (мАТ, содержащие индий-111; связывающие сердечный миозин) и др.



Рис. 1. Классификация препаратов в зависимости от нормативных требований, на основании которых препарат разработан и зарегистрирован.

Развитие биотехнологии получения лекарственных препаратов привело к изменению взаимосвязи между традиционными биологическими и биотехнологическими препаратами. На основании технологии рекомбинантной ДНК были разработаны методы получения препаратов, которые традиционно считались биологическими (препараты рекомбинантных факторов свертывания крови, аллергенов, вакцин на основе рекомбинантных антигенов и др.). Параллельно были разработаны биотехнологические методы выделения, очистки и стандартизации действующего вещества биологических препаратов из природного сырья.

Данные примеры свидетельствуют о стирании границ между биологическими и биотехнологическими препаратами. При этом оценка показателей качества и доклинические исследования многих препаратов (например, факторы свертывания крови, интерфероны, аллергены и др.) проводятся на основании разных нормативных требований для препаратов, полученных на основании природного сырья, и для рекомбинантных. В то же время изучение в клинических условиях безопасности и эффективности препаратов, полученных разными способами, проводится на основании единых нормативных требований.

Анализируя представленные классификации можно сделать заключение, что различия между биологическими и биотехнологическими препаратами в настоящее время практически стерты и не оказывают принципиальное влияние на основные свойства препаратов и данные две группы препаратов составляют одну большую группу биологических/биотехнологических препаратов. Основными признаками данной группы является использование методов биотехнологии (или содержащие этапы производства на основе данных методов) для их производства, а механизм действия данных препаратов основан на направленном (таргетном) биологическом действии.

Для регистрации препарата и его клинического применения необходима классификация, в которой отражена информация об особенностях разработки, оценки качества, доклиническому и клиническому изучению биологического препарата.

Учитывая, что информация о нормативных требованиях, на основании которых зарегистрирован препарат, позволяет оценить объем и характер его исследований, по данному критерию биологические препараты делятся на две группы: оригинальные (зарегистрированные на основании полного объема исследований) и препараты, зарегистрированные на основании сокращенных программ исследований (биоподобные, орфанные и «non-innovators») (рис. 1).

Для оригинальных, орфанных и биоподобных препаратов подготовлены нормативные требования разработки и изучения, которые позволяют гарантировать безопасность и эффективность клинического применения данных групп препаратов.

В плане безопасности особое беспокойство вызывают препараты, которые эксперты ВОЗ предложила называть «non-innovators». Принципы доказательства биоподобия («biosimilarity») в настоящем виде были окончательно одобрены ВОЗ только в 2009 году. До этого времени в ряде стран, в том числе и в Российской Федерации, биологические препараты, разрабатываемые как «вариант» оригинального препарата, регистрировались на основании требований, предъявляемых для изучения и регистрации «дженериков» или оригинальных препаратов. В некоторых странах (Индия, Китай, отдельные страны Латинской Америки и Азии), в первую очередь, в связи с неразвитой экономикой и низким уровнем регуляторных требований и фармаконадзора, данная практика сознательно продолжается и в настоящее время. Для решения данной проблемы ВОЗ и другие организации предлагают определить срок, в течение которого производитель представит доказательства соответствия препаратов «non-innovators» требованиям, предъявляемым для регистрации биоподобных («biosimilars») или оригинальных препаратов [6].

Побочные реакции

Стандартный подход для оценки эффективности и безопасности препаратов возможен только при использовании единых критериев для характеристики изучаемых явле-

ний. При оценке безопасности лекарственных препаратов вопросы классификации имеют особую важность, так как на основе классификации проводится не только анализ причин и механизмов развития побочных реакций (ПР), но и строится тактика их лечения, профилактики и разрабатываются мероприятия по их устранению (разработка модификации препаратов или разработка схем лечения, которые снижают развитие ПР). Например, если реакция на введение классифицирована как аллергическая реакция, то в данном случае необходимо срочно отказаться от дальнейшего применения препарата, так как возможно развитие самых тяжелых исходов. А в случае, если реакция на введение обусловлена не аллергическими механизмами (например, выбросом цитокинов), то достаточно только изменить скорость введения препарата.

При этом научно организованный контроль и анализ причин и механизмов развития побочных реакций являются движущими факторами совершенствования лекарственных препаратов. Так в связи с тем, что была установлена токсичность диэтиленгликоля, применяемого в качестве растворителя для сульфаниламида, в 1937 г. в США был принят закон, согласно которому требуется оценка безопасности лекарственных препаратов, прежде чем они поступят на рынок [7]. Анализ побочного действия талидомида лег в основу разработки нормативных принципов изучения безопасности (токсичности) на доклиническом этапе [8]. В 1980 году был зарегистрирован препарат беноксапрофен для лечения ревматоидного артрита. Однако его применение приводило к повреждению печени, в первую очередь, среди пожилых людей, что послужило толчком для обоснования и разработки требований для проведения клинических исследований в отдельных популяциях больных, в первую очередь, возрастных [9]. В конце 1990 годов было установлено, что терфенадин и астемизол вызывают удлинение интервала QT на ЭКГ, что послужило основанием для разработки требований обязательного тестирования влияния нового препарата на динамику показателей ЭКГ [10]. После развития побочных реакций у здоровых лиц при изучении безопасности препарата TN1412, в Великобритании было утверждено обязательное требование экспертизы препаратов (МАт) специалистами в области иммунологии.

Научное направление, которое занимается разработкой методов контроля и анализа побочных реакций, а также мероприятий для снижения риска ПР, появилось недавно (в конце 1960-х годов). Токсические эффекты, вызываемые лекарственными препаратами, получили название побочные реакции или нежелательные явления (Adverse Drug Events (ADEs) – неблагоприятные события, вызванные препаратами). ВОЗ определяет побочные реакции препарата как любой вредный, непреднамеренный и нежелательный эффект, который развивается в ответ на применение препарата в дозах, предназначенных для профилактики, диагностики и лечения [11]. Для характеристики частоты развития ПР, существует градация кратная 10%, на основании которой ПР делятся на встречающиеся: очень часто, часто, нечасто, редко и очень редко:

- Очень часто — >10%
- Часто — 1–10%
- Нечасто — 0,1–10%
- Редко — 0,01–0,1%
- Очень редко — <0,01%

Для клинической характеристики ПР используется классификация повреждения органов (System organ classification (SOC)), согласно которой указываются органы и ткани, которые были повреждены препаратом (например, нарушения зрения, эндокринные нарушения, инфекции и инвазии, нарушения системы иммунитета и т.п.) [12].

Данные два критерия позволяют оценить любые побочные реакции с использованием единой терминологии, разработанной для Медицинского словаря нежелательных реакций (MedDRA), в которой учитывается частота развития ПР, а сами реакции сгруппированы с учетом основных анатомических и физиологических особенностей организма. Несмотря на это, данный подход не учитывает ряд факторов, среди которых следует отметить причины и механизмы развития ПР, которые могут быть обусловлены свойствами препарата или связаны с особенностью организма пациента, фармакологическими свойствами препарата, дозой, схемой приема, и др. Это не всегда позволяет объективно охарактеризовать ПР. Например, при развитии немедленной аллергической реакции на препарат, данная ПР должна быть квалифицирована как реакция на введение. В то же время, если в основе ее развития лежит аллергическая реакция, то она должна быть отнесена к нарушениям системы иммунитета, а если клинически реакция проявляется аллергическими кожными симптомами, то ПР уже можно квалифицировать как повреждение кожи и т.д.

Для того, чтобы расширить клиническую характеристику развития ПР, R. E. Ferner и T. F. Butt модифицировали классификацию SOC и предложили указывать не только орган, но и клинические синдромы побочных реакций. Например, токсическое поражение ЦНС (острое токсическое нарушение или расстройство), респираторные нарушения (астма, легочный фиброз), сердечно-сосудистые нарушения (тахикардия, трепетание-мерцание), гемопоэтическая токсичность (аплазия, агранулоцитоз, апластическая анемия) и др. [13].

Учитывая данные недостатки M. D. Rawlins и J. W. Thompson [14] в 1977 году предложили классификацию, основанную на фармакологических свойствах препарата. Согласно данной классификации все побочные реакции можно разделить на два типа А и В (рис. 2). К побочным реакциям типа А относятся предсказуемые (или предполагаемые) реакции, обусловленные фармакологическими свойствами препарата. Реакции типа А могут развиваться и при введении препаратов здоровым лицам. К данному типу реакций относятся побочные реакции, вызванные токсичностью, связанной с дозой (дозотоксичность), токсичностью при передозировке, вторичными побочными эффектами и реакциями, обусловленными взаимодействием лекарственных препаратов. В качестве примера можно привести развитие кровотечений в ответ на применение антикоагулянтов. При этом тип А побочных реакций составляет 80–90% от всех побочных реакций, вызываемых указанными лекарственными препаратами [14].

Если развитие реакций типа А связано с предсказуемыми или предполагаемыми ПР, то к ПР типа В относятся непредсказуемые (и даже неожиданные) реакции, например реакции, механизмы развития которых связаны с развитием гиперчувствительности (иммунологические реакции) в ответ на препарат и неспецифическими реакциями, такими как псевдо-аллергические (анафилактикоидные) реакции и идиосинкразия. Развитие реакций данного типа

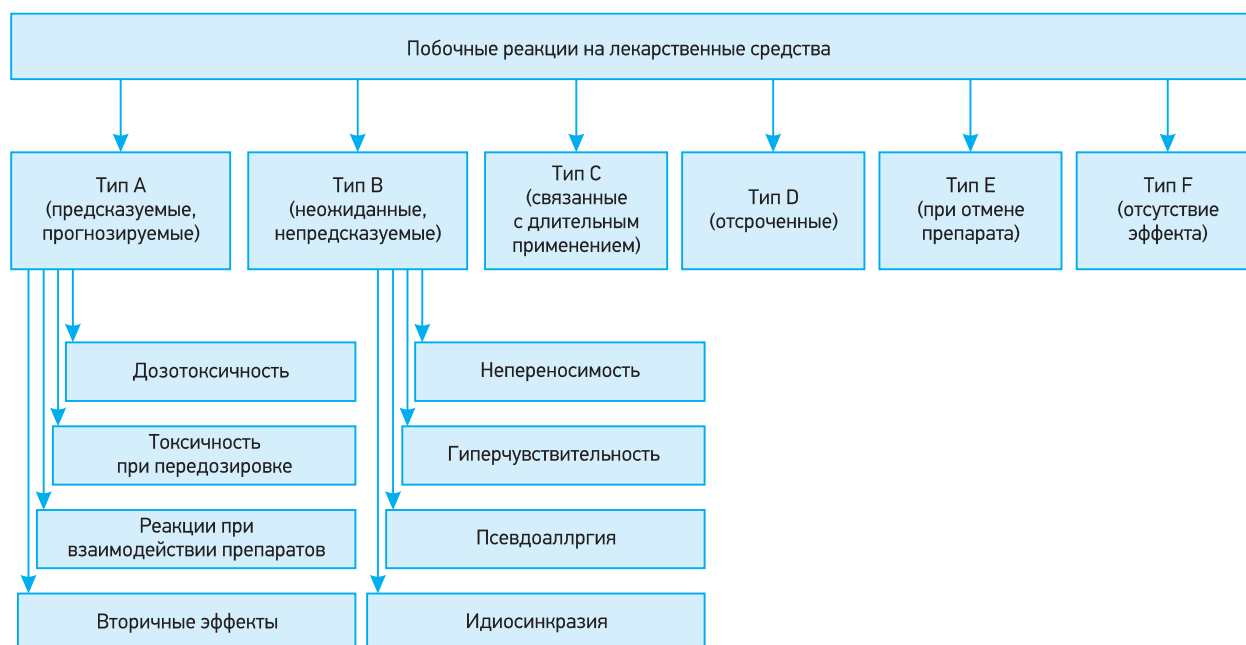


Рис. 2. Модифицированная классификация побочных реакций М. D. Rawlins и J. W. Thompson [14].

не всегда связано с высокой дозой, реакции могут развиваться в ответ на введение малых доз препарата. Данный тип ПР составляет около 10–20% от всех ПР на лекарственные препараты. Клиническая картина ПР данного типа определяется специфической активностью препарата.

Развитие реакций гиперчувствительности (тип В) может произойти по одному из 4 типов аллергических реакций, согласно классификации Джейла и Кумбса. Кроме специфических реакций гиперчувствительности, развитие ПР типа В может быть вызвано неспецифическими механизмами, такими как нарушение действия ферментов, неспецифической дегрануляцией тучных клеток или дисбаланса цитокинов. Развитие ПР данного типа может привести к развитию тахифилаксии (резкое снижение ответа организма на препарат), что сопровождается снижением эффективности лекарственного препарата. Указанные выше реакции могут сопровождаться развитием не только легких, но и системных реакций, даже угрожающих жизни состояний. К идиосинкразическим относятся, как правило, неиммунные реакции, которые являются непредсказуемыми (неожиданными, аномальными) и не связаны со специфической активностью действующего вещества препарата.

Первоначально данная классификация включала два типа реакций, а позже была дополнена С, D, Е и F типами. При этом авторы отмечают, что эти дополнительные типы встречаются очень редко. Развитие ПР типа С обусловлено длительным применением токсичных препаратов в высоких дозах (например, реакции гепатотоксичности при применении парацетамола). Реакции типа D относятся к отсроченным (например, развитие карциномы мочевого пузыря при применении циклофосфида). Реакции типа Е развиваются в ответ на прекращение приема препарата (например, появление судорог после прекращения приема фенитоина). К реакциям типа F относятся случаи, когда лекарственный препарат не вызывает эффекта.

Несмотря на то, что данная классификация среди всех известных, позволяет наиболее полно охарактеризовать особенности развития ПР, но и в ней не учтена роль в раз-

витии ПР таких факторов как доза, схема введения препарата и индивидуальные особенности пациентов.

Классификации ПР на биологические препараты

Некоторые авторы используют классификацию М. D. Rawlins и J. W. Thompson для характеристики ПР при применении биологических (биотехнологических) препаратов. В то же время ряд авторов отмечает, что данная классификация не может быть использована при изучении ПР биологических препаратов, что обусловлено принципиальными различиями между биологическими и химическими препаратами (табл. 2). Среди основных различий следует отметить, что специфическая активность биологических (биотехнологических) препаратов основана на взаимодействии со специфическими рецепторами (лигандами), в том числе и с теми, которые относятся к системе иммунитета. Кроме того, направленное взаимодействие биологического препарата с рецепторами (лигандами) системы иммунитета может повлиять на функционирование определенных звеньев системы иммунитета, что в конечном итоге может привести к развитию ПР.

Принципиальные различия между биологическими и химическими препаратами отражаются на частоте и характере ПР, что было продемонстрировано Н. С. Ebberts с соавт. [15]. В работе указанных авторов представлен сравнительный анализ ПР на химические и биологические препараты, применяемые для лечения опухолевых заболеваний, из терапевтических групп «Противоопухолевые препараты» и «Иммуномодуляторы». В количественном отношении при применении биологических и химических препаратов выявлен практически одинаковый уровень ПР. В ходе исследования было зарегистрировано 747 побочных реакций, из них 361 на биологические и 386 на химические препараты. Однако установлены существенные различия клинических проявлений ПР. Применение биологических иммуносупрессантов значительно чаще приводило к развитию новообразований (в 20% случаев) и инфекционных процессов (22%), относительно химических

иммуносупрессантов (2 и 9% соответственно). Кроме того, применение биологических иммуносупрессантов значительно чаще сопровождалось развитием нарушений функции почек и мочевыводящей системы (в 7% случаев), крови и лимфатической системы (10%) и сосудистой системы (6%), относительно применения химических препаратов (0, 3 и 1% соответственно). При этом авторы исследования установили, что чем меньше срок после лицензирования препарата (т.е. более короткий срок обращения препарата на рынке), тем чаще его применение сопровождается развитием ПР.

Данное исследование еще раз подтвердило, что основные различия между ПР на биологические и химические препараты связаны в первую очередь с характером и частотой клинических проявлений. Следует отметить, что различия в характере ПР наблюдаются не только между биологическими и химическими препаратами, но и между самими биологическими препаратами разного поколения. Например, с начала и до середины XX века основными препаратами для лечения инфекционных заболеваний были сыворотки, получаемые от лошадей или кроликов. Так как методы очистки чужеродных белков были несовершенны, препараты содержали в большом количестве балластные вещества. Таким образом, биологические препараты в тот период содержали весь набор факторов, который необходим для развития иммунной реакции на введение чужеродных белков. Однако других препаратов для лечения инфекционных заболеваний (до появления антибиотиков) в то время не было, поэтому именно гетерологичные сыворотки были наиболее эффективными препаратами. Широкое применение гетерологичных сывороток в клинической практике привело к появлению нового заболевания «сывороточная болезнь», в результате развития так называемой иммуногенности.

В течение длительного времени у исследователей сохранялась надежда, что разработка методов получения препаратов на основе полностью человеческих белков приведет к решению проблемы «нежелательной иммуногенности» биологических препаратов. Однако когда были получены первые препараты на основе полностью человеческого белка, они, тем не менее, сохраняли способность вызывать выработку антител.

Развитие реакции гиперчувствительности на химические препараты (гаптены) возможно при их связывании с белками организма и развитием реакции гиперчувствительности на комплекс препарата с белком организма. Од-

нако развитие ПР на биологические препараты может происходить и не по классическому пути выработки антител к препарату. Например, причиной ПР на биологические препараты может быть их непосредственное взаимодействие с рецепторами иммунокомпетентных клеток, с цитокинами или лигандами, передающими ко-стимулирующие сигналы при развитии иммунного ответа и др. [16].

Учитывая различия между биологическими и химическими препаратами, были попытки разработать классификацию ПР биологических препаратов. Наиболее популярной оказалась классификация, предложенная W. J. Pichler [3] (рис. 3). Классификация разработана для ПР на биотехнологические препараты, которые по мнению автора делятся на 3 группы — препараты мАт, цитокинов и гормонов. В основу классификации положены не клинические проявления ПР, а механизмы их развития.

Согласно классификации W. J. Pichler ПР делятся на 5 типов в зависимости от механизма развития, каждый тип обозначается прописной буквой греческого алфавита, вместо заглавных латинских, используемых в аналогичной классификации А/В типов препаратов (рис. 2 и 3). Первые два типа данной классификации соответствуют типам А и В. Развитие ПР типа α (так же как и для типа А) зависит от специфической (фармакологической) активности препаратов (в первую очередь, цитокинов или свойствами биологических препаратов, повышающих уровень цитокинов) и, соответственно, развитие данных ПР связано с высокими дозами препарата. В норме, цитокины, вырабатываются местно и их эффекты реализуются локально (местно), поэтому системный уровень цитокинов не высок. Некоторые цитокины, такие как ФНО и ИЛ-5, в норме обладают системной активностью, и их количество значительно увеличивается при выраженном иммунном ответе.

Препараты цитокинов вводятся с целью повышения их в области (месте) локализации патологического процесса. Чтобы повысить концентрацию цитокинов в зоне патологического процесса, необходимо введение препарата цитокинов в высоких дозах. Системное увеличение уровня цитокинов может спровоцировать развитие ПР, которые обычно сопровождаются развитием таких симптомов, как лихорадка, миалгия, головная боль и др.

К развитию ПР типа α (цитокин-обусловленных) могут привести не только препараты цитокинов, но и другие препараты. Например, введение препарата Муномаб (мАТ, специфичные CD3) сопровождается массивным вы-

Таблица 2. Различия между лекарственными препаратами химической и биологической природы

Показатель	Химические препараты	Биологические препараты
Молекулярная масса	Низкая (менее 1 кДа)	Высокая (более 1 кДа)
Происхождение	Вещества химического синтеза (ксенобиотики)	Вещества биологической природы, в большинстве, аналогичны белкам организма человека (продукты генной инженерии)
Стабильность	Стабильны	Термочувствительны
Химическая структура	Хорошо охарактеризованная, гомогенная	Гетерогенная композиция
Метаболизм	Метаболизм с образованием активных и неактивных продуктов	Катаболизм как эндогенных белков
Роль цитохрома Р450 в метаболизме	Участвует	Не участвует
Путь введения	Преобладает оральный	Как правило, парентеральный
Зависимость «доза–эффект»	Обычно линейная зависимость	Обычно дискретная зависимость
Механизм действия	Фармакологический	Биологический

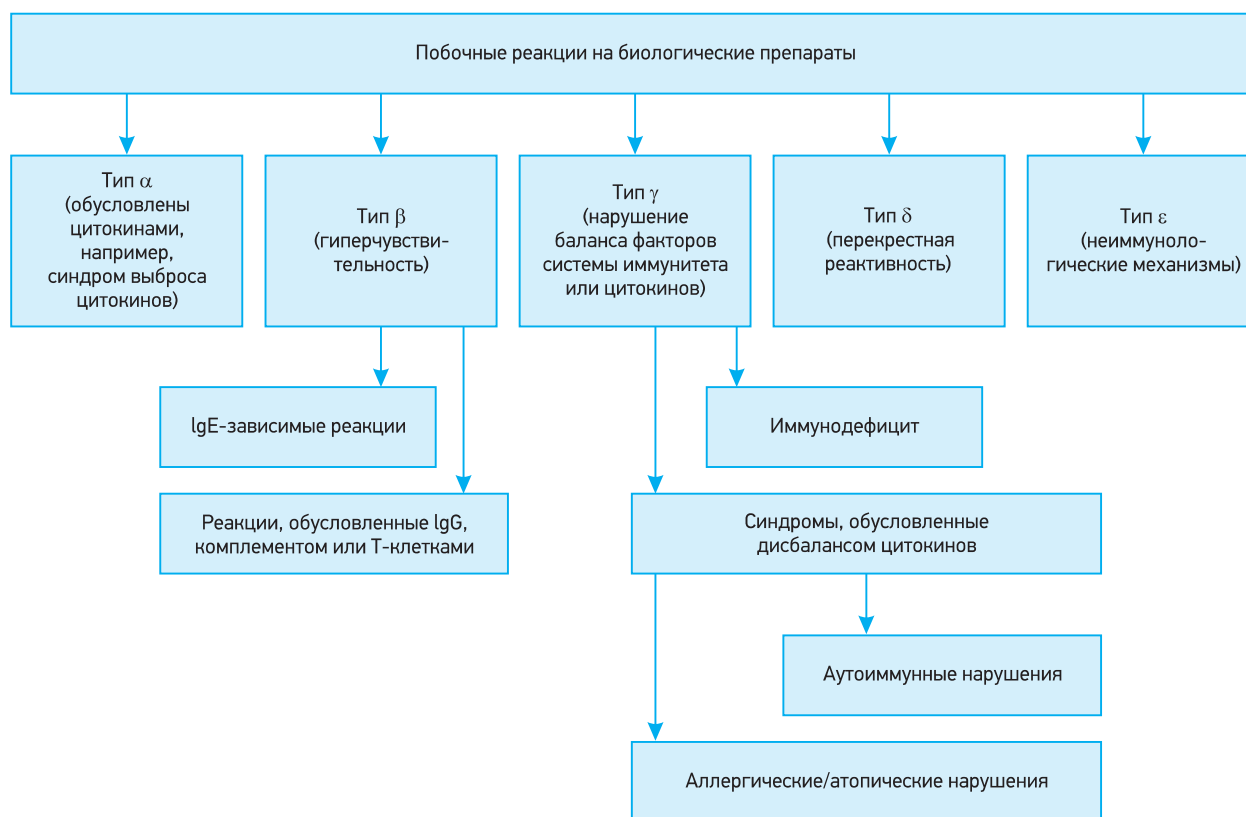


Рис. 3. Классификация побочных реакций на биологические препараты, предложенная W. J. Pichler [3].

бросом медиаторов в результате активации Т-клеток. Это приводит к развитию клинической картины синдрома высвобождения цитокинов (гриппоподобный синдром, боль в суставах, отек, энцефалопатия, асептический менингит, лихорадка, желудочно-кишечные нарушения (рвота, диарея) и др.).

Реакции типа β (соответствуют реакциям типа В) сопровождаются развитием реакций гиперчувствительности, в результате появления антител к белковой молекуле препарата. IgE-обусловленные реакции могут вызвать местные реакции на введение и системные реакции, такие как крапивница или анафилаксия. Обычно развиваются легкие реакции на введение, но могут быть и тяжелые. Применение первых препаратов инсулинов в начале XX века сопровождалось развитием системных реакций со смертельным исходом.

Кроме IgE-опосредованных реакций, введение биологических препаратов может сопровождаться развитием реакций немедленного типа, обусловленных IgG антителами. Механизм развития данных реакций до конца не изучен. Предполагается, что они могут развиваться в результате активации IgG клеток через Fc-рецептор или в результате активации системы комплемента.

Аллергические реакции клеточного (замедленного) типа на биологические препараты развиваются редко, в отличие от химических препаратов, которые могут привести к развитию клеточно-опосредованных экзантем или гепатитов [17]. Но Т-зависимые клеточные механизмы могут принимать участие в развитии антитело-зависимых реакций на биологический препарат.

Реакции типа γ развиваются в результате нарушения баланса между отдельными звеньями системы иммунитета или цитокинов. Развитие ПР обусловлено повышением

или снижением активности конкретного звена иммунитета или цитокина. Применение препаратов, направленно действующих против определенных звеньев системы иммунитета, сопровождается развитием иммунодефицита. Например, блокирование ФНО препаратами мАТ против ФНО, применяемых при лечении ревматоидных заболеваний, снижает стимуляцию фагоцитоза на инфекционные агенты, и может привести к развитию оппортунистических инфекций (туберкулеза или листериоза). Развитие ПР по данному механизму зависит от особенностей препарата.

Развитие ПР по механизму перекрестной реактивности (тип δ) происходит в двух случаях, если одни и те же мишени (рецепторы или лиганды) для препаратов мАТ представлены на различных клетках или если антитела реагируют с различными мишенями (рецепторами или лигандами). В первую очередь это касается опухолевых заболеваний. Например, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) представлен на клетках карциномы. В то же время EGFR экспрессируется на здоровых клетках эпидермиса и придатков. Применение препаратов для лечения карциномы на основе мАТ против EGFR (например, цетуксимаб) может сопровождаться развитием кожных нарушений из-за перекрестного взаимодействия лекарственного препарата с EGFR, экспрессированными на клетках кожи [18].

Механизм развития неиммунологических ПР (тип ε) обусловлен тем, что клетки и соответствующие молекулы системы иммунитета могут быть вовлечены не только в иммунные процессы. Например, лиганды CD40–CD40L, участвующих в передаче ко-стимулирующих сигналов (для переключения синтеза изотипов иммуноглобулинов), представлены не только на клетках системы иммунитета, но и тромбоцитах. Поэтому применение препаратов мАТ

против данных молекул (CD40 или CD40L) может привести к развитию тромбоза [19]. При сердечной недостаточности в организме больного определяется высокий уровень ФНО, применение препаратов — блокаторов ФНО может инициировать обострение сердечной недостаточности [20].

Некоторые цитокины вовлечены не только в иммунологические процессы, но и влияют на работу других систем организма. В частности, применение препаратов интерферона- α может привести к развитию ПР в виде психоневрологических симптомов (спутанность сознания, депрессия) и ретинопатий [20, 21].

После публикации классификации W. J. Pichler, многие исследователи пытались ее усовершенствовать. Поэтому можно встретить несколько модификаций данной классификации (например, в таблице 3 представлена модификация классификации K. Shorer с соавт.) [22].

В последние годы был разработан ряд классификаций ПР биологических препаратов, которые менее цитируемы, чем классификация W. J. Pichler. В частности, J. B. Clarke [23] предложил классификацию ПР биологических препаратов («Biological Adverse Events» (BAE)), на основе механистического подхода. При этом ПР делятся на две группы: реакции, обусловленные фармакологическим действием препарата и обусловленные нефармакологическими свойствами препарата (табл. 4).

Среди обусловленных фармакологическим действием препарата ПР выделены две подгруппы — ожидаемые и неожиданные реакции. А среди обусловленных нефармакологическим действием препарата ПР на биологические препараты выделяют реакции, опосредованные иммунными и не иммунными механизмами развития.

Примеры фармакологически опосредованной токсичности включают инфекции, ингибирование васкуляризации, кардиотоксичность и массивный выход цитокинов. Нефармакологические иммунные реакции включают все реакции гиперчувствительности и аутоиммунные состояния, а не иммунные реакции вызываются Fc-опосредованными реакциями острой фазы воспаления.

Преимущество данного подхода заключается в простоте применения, но в то же время классификация не учитывает и другие очень важные для развития ПР на биологические препараты факторы, такие как иммуногенность препарата, тип иммунного ответа и другие.

Учитывая это, были попытки предложить другие критерии классификации ПР. Так, J. K. Aronson и R. E. Ferner [24] предложили классификацию Dose–Time–Susceptibility (DoTS) (Доза–Время–Предрасположенность). В классификации кроме дозы и периода развития реакции учитывается такой критерий как «Предрасположенность». Последний включает такие факторы, как генетическая предрасположенность, возраст, пол, физиологическое состояние (например, беременность), особенности патогенеза и экзогенные факторы. Данный подход является оптимальным для оценки ПР на вакцины. Хотя классификация и позволяет комплексно охарактеризовать развитие ПР, однако она не нашла широкого практического и научного применения.

Среди предложенных классификаций ПР, вызываемых лекарственными препаратами, отсутствуют подходы для характеристики ПР у детей. Как справедливо отмечает E. Napoleone [25], в большинстве отчетов клинических исследований в детской популяции преобладает информация об эффективности даже среди препаратов, разработанных только для лечения детей (например, для лечения

Таблица 3. Классификация побочных реакций на биологические препараты (Shorer K. с соавт.) [22]

Тип ПР	Механизм действия	Тип реакции	Вызываемые эффекты	Клинические проявления
Альфа (α)	Иммуностимуляция	Инфузионные реакции Реакции на инъекции	Высвобождение цитокинов и (или) активация системы комплемента	Синдром высвобождения цитокинов, гриппоподобный синдром Эритема, одышка, гипотония Боль в суставах, системные реакции
Бета (β)	Иммуногенность	I тип II, III типы IV тип	IgE IgG, IgM Т-клетки	Анафилаксия, сыпь, крапивница Сывороточная болезнь, артралгия Цитотоксичность, экзантемная сыпь Аутоиммунные реакции
Гамма (γ)	Иммунные отклонения	Иммуносупрессия Дисбаланс звеньев иммунитета	Блокада рецепторов (лигандов) Эффекты, обусловленные Th1, Th2, Treg	Инфекции Опухоли Вирус-ассоциированные опухоли Аутоиммунные реакции Индукция гиперчувствительности Обострение заболевания
Дельта (δ)	Перекрестная реактивность	Иммунный ответ на антигены, которые не являются мишенью для препарата	Перекрестно-реагирующие антитела, Т-клетки	Экзантемная сыпь, кожные проявления токсичности Аутоиммунные реакции
Эпсилон (ϵ)	Неиммунные реакции	Ингибция цитохрома P450 Анафилактоидные (псевдо-аллергические) реакции	Высвобождение цитокинов	Сердечно-сосудистые нарушения, артериальные и венозные тромбозы Ксеродерма

генетических заболеваний). При этом следует отметить, что при анализе побочных реакций у 1419 детей В. Ноген с соавт. установили, что 45% детей получали препараты, которые не были одобрены для применения у детей [26].

Дополнительные подтипы аллергических реакций

Кроме классификаций ПР биологических препаратов, группой под руководством W. J. Pichler были разработаны дополнительные подтипы ПР к классической классификации аллергических реакций [27].

IV тип повреждения тканей при аллергических реакциях (классификация Джейл и Кумбса) развивается при появлении сенсибилизированных Т-клеток, при этом в развитии воспаления участвуют различные эффекторныe клетки (эозинофилы, моноциты или нейтрофилы). Учитывая вклад отдельных эффекторных клеток в развитие лекарственной аллергической реакции замедленного типа, W. J. Pichler с соавторами разделили аллергические реакции IV типа на 4 подтипа (рис. 4). С учетом того, какие клетки доминируют в механизме развития аллергического воспаления, авторы выделяют следующие подтипы реакций IV типа: подтип А (IVa) (обусловленные реакцией моноцитов), подтип В (IVb) (эозинофилов), подтип С (IVc) (клетками фенотипа CD4⁺ или CD8⁺) и подтип D (IVd) (нейтрофилов) [27].

Реакции IVa типа развиваются при активации Th1 пути иммунного ответа, который включает и активацию макрофагов. Это сопровождается увеличением продукции ИНФ-γ и синтезом комплементсвязывающих антител (IgG1 и IgG3), что является ко-стимулирующим сигналом для продукции провоспалительных цитокинов (ФНО, ИЛ-12) и развитием CD8⁺ Т-клеточного ответа. Клиническим проявлением данного типа реакций является развитие лекарственного контактного дерматита.

Развитие IVb типа реакции происходит при непосредственном участии Th2 клеток. Активация Th2 клеток сопровождается продукцией противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-5), которые запускают продукцию IgE и IgG4 В-клетками. При этом цитокины подавляют активность макрофагов, но активируют тучные клетки и эозинофилы. Высокий уровень ИЛ-5 запускает развитие эозинофильного воспаления, которое проявляется макулопулезной сыпью, ринитом, бронхиальной астмой.

При аллергических реакциях IVc типа в качестве эффекторных клеток выступают Т-клетки, которые эмигрируют в ткани, вызывая их повреждение. Гибель клеток (гепатоцитов и кератоцитов) происходит за счет секреции перфорина, гранзима В, гранулолизина и активации механизмов апоптоза (через FasL лиганд). Данный тип реакции может доминировать при развитии буллезных повреждений кожи, гепатите и нефрите [28].

Если три указанных выше подтипа обсуждались в течение продолжительного периода времени, то IVd тип впервые был описан M. Britschgi с соавторами недавно [29]. Авторы считают, что Т-клетки могут координировать развитие асептического нейтрофильного воспаления. При этом Т-клетки продуцируют гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), фактор хемотаксиса и активации нейтрофилов (CXCL-8). Данный тип реакций наблюдается при развитии болезни Бехчета и псориаза.

Основной проблемой практического применения классификации с идентификацией аллергических реакций IV типа и четырех ее подтипов является отсутствие четких клинических критериев, характеризующих данные подтипы, и диагностических маркеров, на основании которых можно установить к какому подтипу относится ПР.

Следующее дополнение к классификации аллергических реакций связано с механизмами развития иммунного ответа на низкомолекулярные соединения. Согласно классическим представлениям о развитии аллергических реакций, низкомолекулярные химические соединения самостоятельно не могут вызвать иммунный ответ. Однако указанные вещества, получившие название гаптена, соединяясь с белками организма и образуя комплекс, могут запустить развитие иммунного ответа. Данные вещества были названы гаптенном. Исследования механизмов развития иммунной реакции на гаптены показали, что возможны три варианта данного процесса. В первом случае, гаптен (действующее вещество лекарственного препарата) связывается с растворенными эндогенными белками или белками, фиксированными на поверхности клеток, и образует комплекс белок-гаптен. Комплекс взаимодействует с иммунокомпетентными клетками (ИКК) и непосредственно взаимодействует с антигенами главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) на антиген-презентирующих

Таблица 4. Классификация побочных реакций на биологические препараты (BAE) J. B. Clarke [23]

Реакции, обусловленные фармакологическим действием препарата			
Ожидаемые реакции		Неожидаемые реакции	
Тип реакций	Вещество (молекула, рецептор и др.) опосредующее развитие ПР	Тип реакций	Вещество (молекула, рецептор и др.), опосредующее развитие ПР
Подавление процесса заживления	VEGF	Синдром высвобождения цитокинов	Массивная активации Т-клеток
Гипогликемия	Инсулин	Кардиотоксичность	HER2, экспресси-рованный на миоцитах
Инфекции	Иммуносупрессия	Тромбоз	VEGF
Реакции, обусловленные нефармакологическим действием препарата			
ПР в результате развития иммунного ответа		ПР, не связанные с иммунным ответом	
Тип реакций	Вещество (молекула, рецептор и др.) опосредующее развитие ПР	Тип реакций	Вещество (молекула, рецептор и др.), опосредующее развитие ПР)
Повышенная чувствительность	Неаутологичный эпитоп (антиген)	Синдром лизиса опухоли	Антигены (например, CD20, HER2 и др.), ассоциированные с опухолью
Аутоиммунные реакции	Неаутологичный эпитоп (антиген)	Воспаление	Белки острой фазы

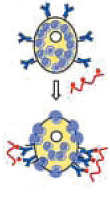
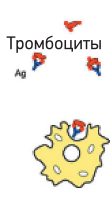
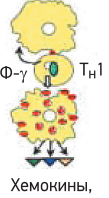
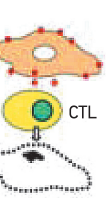
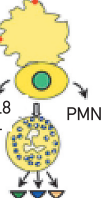
	Тип I	Тип II	Тип III	Тип IV			
				Тип IVa	Тип IVb	Тип IVc	Тип IVd
Активные молекулы или клетки	IgE	IgG	IgG	ИНФ- γ , ФНО β (цитокины Th1 пути)	ИЛ-5, ИЛ-4, ИЛ-13 (цитокины Th2 пути)	Гранзим В, перфорин (CTL)	CXCL-8, ИЛ-17, ГМ-КСФ, (Т-клетки)
Антиген	Растворимый антиген	Антиген, ассоциированный с клеткой или матриксом	Растворимый антиген	Антиген представляется АПК или происходит прямая стимуляция Т-клеток		Антигены, ассоциированы с клеткой или происходит прямая стимуляция Т-клеток	Растворимый антиген представляется АПК или происходит прямая стимуляция Т-клеток
Эффекторы	Активированные тучные клеток	FcR+ — клетки (фагоциты, NK-клетки)	FcR+ — клетки, комплемент	Активированные макрофаги	Эозинофилы	Т-клетки	Нейтрофилы
							
Примеры реакций гиперчувствительности	Аллергический ринит, астма, анафилаксия	Аллергия на препараты (например, на пенициллин)	Сывороточная болезнь, реакция Артюса	Туберкулиновая реакция, контактный дерматит	Аллергические астма или ринит, макулопапулезная сыпь с эозинофилией	Контактный или буллезный дерматит, макулопапулезная сыпь, гепатит	AGEP, болезнь Бехчета

Рис. 4. Классификация повреждения тканей при аллергических реакциях Джейл и Кумбса, модифицированная W. J. Pichler с соавт. [27].

клетках, что сопровождается развитием иммунного ответа (например, иммунный ответ на пенициллин).

При втором варианте, препарат не может вступить в контакт с ИКК. Однако в процессе его метаболизма и изменения структуры молекулы, он может приобрести свойства гаптена, и дальше происходит развитие иммунного ответа, как и в первом варианте. Данные препараты получили название прогаптены (например, сульфаметоксазол (SMX)), который в процессе метаболизма переходит в активную форму SMX-NO (за счет цитохром P450-зависимого метаболизма в печени).

Изучение механизмов взаимодействия лекарственных средств с системой иммунитета позволило W. J. Pichler с соавт. [30] предположить, что препарат может взаимодействовать непосредственно с рецепторами Т-клеток, в том числе и рецепторами, которые улавливают сигналы «опасности» (Toll-рецепторы), т.е. с рецепторами, участвующими в реализации механизмов системы врожденного иммунитета. В данном случае препарат нековалентно связывается с Т-клеточным рецептором, что сопровождается развитием иммунной реакции с участием ГКГ. При этом не развивается сенсибилизация, но происходит прямая стимуляция клеток памяти и эффекторных Т-клеток, аналогично, как и при взаимодействии с суперантигеном. Было продемонстрировано развитие иммунного ответа *in vitro* на некоторые антибиотики. Данная теория получила название р-і концепции.

Разделение препаратов на группы, в зависимости от варианта запуска иммунного ответа, в настоящее время продемонстрировано только в исследованиях *in vitro*, поэтому для практического использования данного подхода необходимы дальнейшие исследования.

Клинические проявления ПР на лекарственные препараты могут быть разной степени тяжести. Американским институтом рака предложена классификация интенсивности побочных реакций на лекарственные препараты, которая включает 5 уровней: 1 степень — легкая; 2 степень — умеренная; 3 степень — тяжелая; 4 степень — угрожающая жизни и 5 степень — смерть [31].

Исходя из того, что для большинства биологических препаратов ПР связаны с реакциями гиперчувствительности, A. Barboud [32] была предложена классификация степени тяжести клинических проявлений развития реакций гиперчувствительности на биологические препараты (табл. 5).

Таким образом, среди известных классификаций ПР на биологические препараты наиболее признанной является классификация, предложенная W. J. Pichler, и ее мо-

Таблица 5. Классификация A. Barboud тяжести реакций гиперчувствительности на биологические препараты [32]

Степень тяжести ПР	Клинические проявления побочных реакций
1	Кратковременная гиперемия, сыпь, легкая форма лихорадки
2	Сыпь, крапивница, одышка, тяжелая лихорадка или бронхоспазм
3	Бронхоспазм с крапивницей (или без крапивницы), ангионевротический отек
4	Анафилаксия
5	Смерть

дификации. Однако и данная классификация имеет ряд принципиальных недостатков. Прежде всего, данная классификация разработана для трех групп препаратов (препаратов мАТ, цитокинов и гормонов), что значительно ограничивает сферу ее применения. Во вторых, данная классификация позволяет охарактеризовать только ПР, обусловленные иммунологическими механизмами. Однако фармакологическое действие биологических препаратов не ограничивается их влиянием на систему иммунитета, например, ПР на инсулин могут быть в виде изменения уровня сахара в крови, а введение эритропоэтина может вызвать повышение артериального давления, обусловленного увеличением количества эритроцитов, или возможно развитие синдрома гиперстимуляции яичников в ответ на введение фолликулотропина. Несмотря на то, что развитие данных ПР связано с биологическим действием препаратов (взаимодействие с рецептором-«мишенью»), классификации W. J. Pichler не учитывают данные особенности ПР на биологические препараты. Кроме того, могут возникнуть трудности при определении к какому типу отнести ПР на введение препарата, так как они могут быть обусловлены, как выделением медиаторов (тип α), так и аллергическими реакциями (тип β). Аналогично, сложно провести границу между аутоиммунными реакциями, развитие которых возможно по типу β и γ , при оценке ПР в соответствии с данной классификацией.

Кроме того, в классификации слабо отражена роль проявления «нежелательной» иммуногенности в развитии ПР на биологические препараты. Появление нейтрализующих антител к биологическому препарату может привести к подавлению его терапевтической эффективности, а отсутствие терапевтической эффективности является одним из видов ПР.

Для того, чтобы объективно оценить степень риска безопасности применения различных лекарственных препаратов и разработать мероприятия для снижения влияния нежелательных эффектов препаратов требуются стандартные подходы для выявления, анализа и оценки последствий ПР. Представленный анализ свидетельствует об отсутствии единого взгляда на данную проблему и необходимости дальнейшей разработки общих подходов и критериев для объективной характеристики ПР, развивающихся в ответ на введение биологических препаратов.

Литература

1. Public Health Services Act 42 U. S. C. § 262(i).
2. Directive 2001/83/EC of the European parliament and of the council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use (OJ L 311, 28.11.2001, p. 67).
3. Pichler WJ. Adverse side-effects to biological agents. *Allergy*; 2006; 61: 912–20.
4. Leader B, Baca QJ, Golan DE. Protein therapeutics: a summary and pharmacological classification. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7(1): 21 – 39.
5. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Q5C: Quality of biotechnological products: Stability testing of biotechnological/biological products, Nov. 30, 1995.
6. Солдатов АА, Авдеева ЖИ, Алпатова НА, Медуницын НВ, Киселевский МВ, Лысинова СЛ. и др. Проблемы регистрации биологических неоригинальных препаратов. *Биопрепараты* 2014; (4): 24–36.
7. Wax PM. Elixirs, diluents, and the passage of the 1938 Federal Food, Drug and Cosmetic Act. *Ann Intern Med*. 1995; 122(6): 456–61.
8. Stephens T, Brynner R. *Dark Remedy. The Impact of Thalidomide and its Revival as a Vital Medicine*. Cambridge, Massachusetts: Perseus Publishing; 2001.
9. Dukes MNG. The seven pillars of foolishness. In: Dukes MNG, editor. *Side Effects of Drugs. Annual 8*. Amsterdam: Elsevier; 1984. P. xvii–xxiii.
10. Shah RR. Drug-induced prolongation of the QT interval: why the regulatory concern? *Fundam Clin Pharmacol*. 2002; 16(2): 119–24.
11. World Health Organization. *The Importance of Pharmacovigilance. Safety Monitoring of Medicinal Products. Chapter 2. A Short History of Involvement in Drug Safety Monitoring by WHO*. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js4893e/3.html>.
12. Available from: evs.nci.gov/ftp1/CTCAE_v4.03.
13. Ferner RE, Butt TF. Adverse drug reactions. *Med*. 2012; 40: 366–70.
14. Rawlins M, Thompson W. Mechanisms of adverse drug reactions. In: Davies D, ed. *Textbook of adverse drug reactions*. New York: Oxford University Press; 1991. P. 18–45.
15. Ebberts HC, Al-Temimi E, Moors EHM, Mantel-Teeuwisse AK, Schellekens H, Leufkens HGM. Differences Between Post-Authorization Adverse Drug Reactions of Biopharmaceuticals and Small Molecules. *BioDrugs* 2013; 27(2): 167–74.
16. Giezen TJ, Mantel-Teeuwisse AK, Straus SMJM, et al. Safety-related regulatory actions for biologicals approved in the United States and the European Union. *JAMA* 2008; 300: 1887–96.
17. Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions. *Ann Intern Med*. 2003; 139: 683–93.
18. Perez-Soler R, Saltz L. Cutaneous adverse effects with HER1/EGFR-targeted agents: is there a silver lining? *J Clin Oncol*. 2005; 23: 5235–46.
19. Danese S, Fiocchi C. Platelet activation and the CD40 / CD40 ligand pathway: mechanisms and implications for human disease. *Crit Rev Immunol* 2005; 25: 103–21.
20. Kwon HJ, Cote TR, Cuffe MS, Kramer JM, Braun MM. Case reports of heart failure after therapy with a tumor necrosis factor antagonist. *Ann Intern Med*. 2003; 138: 807–11.
21. Kasahara A, Hiraide A, Tomita N, Iwahashi H, Imagawa A, Ohguro N, et al. Vogt-Koyanagi-Harada disease occurring during interferon alpha therapy for chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*. 2004; 39: 1106–09.
22. Sherer K, Spoerl D, Bircher AJ. Adverse drug reactions to biologics. *JDDG* 2010; (8): 411–26.
23. Clarke JB. Mechanisms of adverse drug reactions to biologics. In: Uetrecht J, ed. *Adverse Drug Reactions. Handbook of Experimental Pharmacology*. New York: Springer; 2010. P. 453–74.
24. Aronson JK, Ferner RE. Joining the DoTS: new approach to classify adverse drug reactions. *BMJ* 2003; 327: 1222–25.
25. Napoleone E. Children and ADRs (Adverse Drug Reactions). *Ital. J. Pediatr*. 2011; 36: e1–e5.
26. Horen B, Montastruc JL. Adverse drug reactions and off-label drug use in pediatric outpatients. *Br J Clin Pharmacol*. 2002; 54(4): 665–70.
27. Pichler WJ, Adam J, Daubner B, Gentinetta T, Keller M, Yerly D. Drug Hypersensitivity Reactions: Pathomechanism and Clinical Symptoms. *Med Clin N° Am*. 2010; 94: 645–64.
28. Nassif A, Bensussan A, Dorothee G, et al. Drug specific cytotoxic T-cells in the skin lesions of a patient with toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*. 2002; 118: 728–33.
29. Britschgi M, Steiner UC, Schmid S, et al. T-cell involvement in drug-induced acute generalized exanthematous pustulosis. *J Clin Invest*. 2001; 107: 1433–41.
30. Pichler WJ. Pharmacological interaction of drugs with antigen-specific immune receptors: the p-i concept. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2002; 2: 301–5.
31. National Cancer Institute. *Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE)*. 9 August, 2006. Available from: http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf.
32. Barbaud A, Granel F, Waton J, Poreaux C. How to manage hypersensitivity reactions to biological agents? *Eur J Dermatol*. 2011; 21 (5): 667–74.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.

Солдатов Александр Алексеевич. Главный эксперт Управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук.

Авдеева Жанна Ильдаровна. Главный эксперт Управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Олефир Юрий Витальевич. Генеральный директор, д-р мед. наук.

Меркулов Вадим Анатольевич. Заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, д-р мед. наук, профессор.

Бондарев Владимир Петрович. Директор Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Адрес для переписки: Солдатов Александр Алексеевич; Soldatov@expmed.ru

Safety of biological preparations. Report 1. Terminology and classification issues

A. A. Soldatov, Zh. I. Avdeeva, Yu. V. Olefir, V. A. Merkulov, V. P. Bondarev

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Adverse drug reactions (ADR) are injuries caused by taking a medication. For the purpose of an objective analysis of the reasons and mechanisms of ADR, with a view to developing the methods for their relief and prevention, one should use standard criteria for the characterization of ADR. Typically, the description of ADR includes information about the damaged organ or tissue and the frequency of ADR occurrence. To characterize ADRs caused by low molecular weight chemicals proposed, an A/B classification and its modifications have been proposed, based on the possible mechanisms of ADR. Biological preparations differ from chemicals by a number of characteristics, including the mechanism of action. Considering the nature of biological/biotechnological preparations, several types of ADR classifications, related to the mentioned drug group, have been suggested. The most popular classification for ADR related to biological preparations have been suggested by W. J. Pichler. It is based on the involvement of immunological mechanisms in ADR occurrence. This classification divides ADR related to biologicals into 5 types: type α (reactions caused by high level of cytokines), type β (hypersensitivity reaction), type γ (reactions caused by the imbalance of immune factors), type δ (cross-reactivity reactions) and type ε (reactions caused by non-immunological mechanisms). The mentioned classification method has certain disadvantages: it does not cover all biological preparations, but only drugs, containing cytokines, hormones and monoclonal antibodies preparations; and it does not consider ADR occurring without immune mechanisms (such as increased blood pressure when administering preparations of recombinant erythropoietins).

Key words: adverse drug reactions; adverse drug effects; adverse drug reactions classification; drug allergic reactions; drug allergy; drug hypersensitivity reactions; biological preparations; biotechnological preparations.

For citation: Soldatov AA, Avdeeva ZI, Olefir YuV, Merkulov VA, Bondarev VP. Safety of biological preparations. Report 1. Terminology and classification issues. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16 (1): 14–26.

References

- Public Health Services Act 42 U. S. C. § 262(i).
- Directive 2001/83/EC of the European parliament and of the council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use (OJ L 311, 28.11.2001, p. 67).
- Pichler WJ. Adverse side-effects to biological agents. *Allergy*; 2006; 61: 912–20.
- Leader B, Baca QJ, Golan DE. Protein therapeutics: a summary and pharmacological classification. *Nat Rev Drug Discov*. 2008; 7(1): 21 – 39.
- International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Q5C: Quality of biotechnological products: Stability testing of biotechnological / biological products, Nov. 30, 1995.
- Soldatov AA, Avdeeva ZI, Alpatova NA, Medunitsyn NV, Kiselevsky MV, Lysikova SL, Bondarev VP, Mironov AN, Merkulov VA, Sakaeva IV. The aspects of biosimilar marketing approval process. *Biopreparaty* 2014; (4): 24–36 (in Russian).
- Wax PM. Elixirs, diluents, and the passage of the 1938 Federal Food, Drug and Cosmetic Act. *Ann Intern Med*. 1995; 122(6): 456–61.
- Stephens T, Brynner R. Dark Remedy. The Impact of Thalidomide and its Revival as a Vital Medicine. Cambridge, Massachusetts: Perseus Publishing; 2001.
- Dukes MNG. The seven pillars of foolishness. In: Dukes MNG, editor. *Side Effects of Drugs*. Annual 8. Amsterdam: Elsevier; 1984. P. xvii–xxiii.
- Shah RR. Drug-induced prolongation of the QT interval: why the regulatory concern? *Fundam Clin Pharmacol*. 2002; 16(2): 119–24.
- World Health Organization. The Importance of Pharmacovigilance. Safety Monitoring of Medicinal Products. Chapter 2. A Short History of Involvement in Drug Safety Monitoring by WHO. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js4893e/3.html>.
- Available from: evs.nci.gov/ftp1/CTCAE v 4.03.
- Ferner RE, Butt TF. Adverse drug reactions. *Med*. 2012; 40: 366–70.
- Rawlins M, Thompson W. Mechanisms of adverse drug reactions. In: Davies D, ed. *Textbook of adverse drug reactions*. New York: Oxford University Press; 1991. P. 18–45.
- Ebbers HC, Al-Temimi E, Moors EHM, Mantel-Teeuwisse AK, Schellekens H, Leufkens HGM. Differences Between Post-Authorization Adverse Drug Reactions of Biopharmaceuticals and Small Molecules. *BioDrugs* 2013; 27(2): 167–74.
- Giezen TJ, Mantel-Teeuwisse AK, Straus SMJM, et al. Safety-related regulatory actions for biologicals approved in the United States and the European Union. *JAMA* 2008; 300: 1887–96.
- Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions. *Ann Intern Med*. 2003; 139: 683–93.
- Perez-Soler R, Saltz L. Cutaneous adverse effects with HER1/EGFR-targeted agents: is there a silver lining? *J Clin Oncol*. 2005; 23: 5235–46.

19. Danese S, Fiocchi C. Platelet activation and the CD40 / CD40 ligand pathway: mechanisms and implications for human disease. *Crit Rev Immunol* 2005; 25: 103–21.
20. Kwon HJ, Cote TR, Cuffe MS, Kramer JM, Braun MM. Case reports of heart failure after therapy with a tumor necrosis factor antagonist. *Ann Intern Med*. 2003; 138: 807–11.
21. Kasahara A, Hiraide A, Tomita N, Iwahashi H, Imagawa A, Ohguro N, et al. Vogt-Koyanagi-Harada disease occurring during interferon alpha therapy for chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*. 2004; 39: 1106–09.
22. Sherer K, Spoerl D, Bircher AJ. Adverse drug reactions to biologics. *JDDG* 2010; (8): 411–26.
23. Clarke JB. Mechanisms of adverse drug reactions to biologics. In: Uetrecht J, ed. *Adverse Drug Reactions. Handbook of Experimental Pharmacology*. New York: Springer; 2010. P. 453–74.
24. Aronson JK, Ferner RE. Joining the DoTS: new approach to classify adverse drug reactions. *BMJ* 2003; 327: 1222–25.
25. Napoleone E. Children and ADRs (Adverse Drug Reactions). *Ital. J. Pediat*. 2011; 36: e1–e5.
26. Horen B, Montastruc JL. Adverse drug reactions and off-label drug use in pediatric outpatients. *Br J Clin Pharmacol*. 2002; 5(4): 665–70.
27. Pichler WJ, Adam J, Daubner B, Gentinetta T, Keller M, Yerly D. *Drug Hypersensitivity Reactions: Pathomechanism and Clinical Symptoms*. *Med Clin N° Am*. 2010; 94: 645–64.
28. Nassif A, Bensussan A, Dorothee G, et al. Drug specific cytotoxic T-cells in the skin lesions of a patient with toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*. 2002; 118: 728–33.
29. Britschgi M, Steiner UC, Schmid S, et al. T-cell involvement in drug-induced acute generalized exanthematous pustulosis. *J Clin Invest*. 2001; 107: 1433–41.
30. Pichler WJ. Pharmacological interaction of drugs with antigen-specific immune receptors: the p-i concept. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2002; 2: 301–5.
31. National Cancer Institute. *Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE)*. 9 August, 2006. Available from: http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf.
32. Barbaud A., Granel F., Waton J., Poreaux C. How to manage hypersensitivity reactions to biological agents? *Eur J Dermatol*. 2011; 21 (5): 667–74.

Authors

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8-2 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Soldatov AA. Chief expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences.

Avdeeva ZhI. Chief expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

Olefir YuV. Director General. Doctor of Medical Sciences.

Merkulov VA. Deputy Director General for the expertise of drugs. Doctor of Medical Sciences, professor.

Bondarev VP. Director of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

Современное состояние лабораторной диагностики сибирской язвы: обнаружение и идентификация *Bacillus anthracis*

Л. В. Саяпина¹, Р. Н. Лобач², В. П. Бондарев¹, Н. Ф. Никитюк¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерство здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

² Федеральное государственное казенное учреждение «294 Центр спасательных операций особого риска» Министерства чрезвычайных ситуаций Российской Федерации, Москва, Россия

Поступила 14.08.2015. Принята к публикации 17.02.2016.

В статье обобщены материалы источников литературы, посвященные вопросам лабораторной диагностики сибирской язвы. Показана приоритетность разработки новых методов создания высокочувствительных тест-систем и препаратов, предназначенных для обнаружения и идентификации сибиреязвенного микроба. Отмечена роль экспресс-методов для обнаружения возбудителей инфекционных болезней, что имеет большое значение при расследовании актов биотерроризма, спорадических случаев и вспышек среди людей и животных. Приводится анализ использования различных методов выявления возбудителя сибирской язвы, при этом акцентируется внимание на современных молекулярно-диагностических технологиях. Показано, что основными параметрами диагностических тест-систем являются их чувствительность, специфичность, а также воспроизводимость получаемых результатов. В статье приводятся данные о разработках питательных сред для выделения и идентификации возбудителя сибирской язвы, а также о возможности использования сибиреязвенных бактериофагов для фагоиндикации и фагоидентификации бактерий.

Ключевые слова: сибирская язва; выявление; идентификация; диагностические препараты; тест-системы; молекулярно-генетические методы.

Библиографическое описание: Саяпина ЛВ, Лобач РН, Бондарев ВП, Никитюк НФ. Современное состояние лабораторной диагностики сибирской язвы: обнаружение и идентификация *Bacillus anthracis*. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; 16 (1): 27–34.

Сибирская язва — опасное инфекционное заболевание, которое известно с давних времен. При этом, несмотря на своевременные проведения противоэпидемических мероприятий, вспышки сибирской язвы до настоящего времени наблюдаются практически во всех странах мира. Ежегодно регистрируются случаи заболевания не только среди животных, но и людей, в том числе со смертельным исходом. В лабораторной диагностике сибирской язвы важная роль отводится выявлению и идентификации возбудителя в биологическом материале и объектах окружающей среды [1–4].

В настоящее время арсенал методов для обнаружения возбудителей инфекционных заболеваний достаточно широк, начиная от традиционных бактериологических и постановки биопроб на животных до метода флуоресцирующих антител (МФА), реакции непрямой агглютинации (РНГА), иммуноферментного анализа (ИФА), полимеразной цепной реакции (ПЦР) [5–7].

Основными методами выявления сибирской язвы являются МФА и ПЦР [8, 9]. Метод ИФА является доступным и надежным, позволяющим сделать предварительный вывод о наличии возбудителя сибирской язвы в исследуемом материале и своевременно начать проведение противоэпидемических и профилактических мероприятий [10, 11].

Для обнаружения *Bacillus anthracis* в объектах окружающей среды и биологическом материале в Ставропольском НИПЧИ разработаны сибиреязвенные иммуноглобулины флуоресцирующие вегетативные и споровые, представляющие собой иммуноглобулиновые фракции из водорастворимому антигену *B. anthracis*, выделенные из кроличьих сывороток и адсорбированные на магноиму-

носорбентах водорастворимыми антигенами штаммов *B. cereus*. Проведенные медицинские испытания показали их диагностическую ценность и возможность использования для обнаружения *B. anthracis* в лабораторной диагностике сибирской язвы [12].

Важное место отводится проведению исследований инфицированного материала серологическими методами с помощью сывороток, диагностикумов и ИФА [13, 14]. В практическом здравоохранении до середины 90-х лет прошлого столетия широко применялись эритроцитарные антигенные и иммуноглобулиновые диагностикумы, полученные на основе протективного антигена (ПА) или антиген к нему. Однако в последние годы в Российской Федерации эритроцитарные диагностикумы не производят.

В связи с этим, представляет научный и практический интерес использование ПА, выделенного гель-хроматографией из культурального фильтрата токсинпродуцирующего штамма при разработке более совершенных диагностических препаратов для обнаружения антител к возбудителю сибирской язвы. С применением сибиреязвенных антигенных препаратов (диагностикум и тест-система), разработанных в Волгоградском научно-исследовательском противочумном институте, диагноз сибирская язва в РНГА был подтвержден в 95% случаев при исследовании образцов почв из скотомогильников и мест убоя больных животных [15].

Иммуноферментная тест-система на основе ПА широко использовалась для определения антител в сыворотках крови животных и людей при изучении химических и живых вакцин, а также для диагностики сибирской язвы при эпидемических вспышках и биотеррористическом акте в США в 2001 г. [16].

В источниках литературы при обнаружении антител к ПА в сыворотках крови экспериментальных животных, вакцинированных и больных сибирской язвой людей, одни авторы указывают на более высокую чувствительность ИФА, по данным других — РНГА и ИФА равноценны. При этом отмечается нестабильность эритроцитарных диагностикомов, полученных с использованием не обработанных формалином эритроцитов [17].

Известно, что диагностические тест-системы оценивают по их чувствительности, специфичности и воспроизводимости. Кроме этого, не менее важным является время, затрачиваемое на проведение анализа и получение результата [18]. Одним из простых и надежных методов обнаружения возбудителей инфекционных заболеваний является реакция латекс-агглютинации, отличающаяся простотой постановки, возможностью быстрого получения ответа, отсутствием необходимости использования специальных устройств для регистрации результатов. Реакция латекс-агглютинации основана на специфическом взаимодействии антител, иммобилизованных на твердом носителе (полиакролеиновых микрочастицах), с целевыми микроорганизмами или их компонентами с образованием визуально регистрируемого агглютината. Очевидно, что при разработке латексных диагностикомов преимущество должно отдаваться моноклональным антителам как более стандартным и высокоспецифичным иммунологическим компонентам.

Основное направление исследований по разработке экспресс-методов ориентировано не только на сокращение времени учета результатов, повышение их чувствительности и специфичности, но и на максимальную простоту постановки реакций и сокращение энерго- и трудозатрат. Учеными Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (ГНЦ ПМБ) проведены исследования по иммобилизации моноклональных антител на твердом носителе (латексных микрочастицах) и подбору оптимальной их нагрузки. Показано, что наибольшая чувствительность реакции латекс-агглютинации наблюдалась при использовании моноклональных антител 1Е6 при их нагрузке на латексных частицах в количестве 20 мкг на 50 мкл. В результате проведенных испытаний экспериментальных образцов латексного диагностикума на основе МКА 1Е6, 6В6 и 3Г3 установлено, что чувствительность реакции с инактивированными культурами штаммов *B. anthracis* и четырех близкородственных штаммов значительно увеличивается с использованием МКА 1Е6 по сравнению с другими антителами [19].

Одними из последних примеров подобных разработок являются экспериментальные образцы «Набор реагентов для определения спор *B. anthracis* в реакции латекс-агглютинации» и «Набор реагентов для быстрой идентификации вегетативной формы возбудителя сибирской язвы (Тест-полоска *B. anthracis*)», сконструированные в ГНЦ ПМБ. Принцип работы латексного диагностикума основан на специфическом взаимодействии спор *B. anthracis* с моноклональными антителами (МКА), сорбированными на латексе. Чувствительность при выявлении спор *B. anthracis* методом латексной агглютинации составляет 2×10^6 спор/мл и, что особенно важно, диагностикум не выявляет близкородственные микроорганизмы рода *Bacillus* в концентрации $2,5 \times 10^8$ спор/мл и менее [20].

Чувствительным, специфичным и оперативным методом идентификации микроорганизмов и токсинов, пригодным для применения в условиях небольших стационарных и мобильных лабораторий, а также в полевых ус-

ловиях, является иммунохроматографический анализ. Данный метод направлен на выявление и идентификацию бактериальных вегетативных клеток, спор, вирусов, токсинов при анализе неизвестных порошков, смывов из окружающей среды, а также при исследовании проб пищевых продуктов. В последние годы широкое применение находят иммунохроматографические тесты (ИХ-тест *B. anthracis*), представляющие собой портативные индикаторные полоски — «стрипы». Показано, что «Тест-полоска *B. anthracis*» обладает чувствительностью 1×10^9 м.к./мл и высоким уровнем специфичности — при использовании микробных взвесей штаммов близкородственных сапрофитов рода *Bacillus* были получены только отрицательные результаты [21].

Известны иммунохроматографические экспресс-тесты Singlepath и Duopath производства фирмы «Merck» (Германия) для выявления бактерий рода *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli* O157:H7 и веротоксинов энтерогеморрагических штаммов *E. coli* в пищевых продуктах и продовольственном сырье, водных объектах окружающей среды и биоматериале человека. Чувствительность определения по данной методике составляет для бактерий *Listeria monocytogenes* — 10^4 – 10^6 м.к./мл, бактерий рода *Salmonella* — 10^4 – 10^7 м.к./мл, *E. coli* O157:H7 — 10^4 – 10^7 м.к./мл.

Достаточно перспективными и информативными являются исследования, проведенные сотрудниками ГосНИИ биологического приборостроения, направленные на выявление бактерий, вирусов и токсинов в различных объектах окружающей среды иммунохроматографическим методом с люминесцентной детекцией.

Разработана отечественная укладка иммунохроматографических индикаторных элементов УИХЭ-1 (ГосНИИ биологического приборостроения) для выявления возбудителей чумы, туляремии, сапа, сибирской язвы и ботулинического токсина типа А в смывах из объектов окружающей среды. Чувствительность метода по данным авторов составляет 1×10^5 – 1×10^6 м.к./мл и 250 нг/мл ботулинического токсина типа А, а длительность анализа без учета времени пробоподготовки — 25–30 мин [22]. Указанное иммунохроматографическое техническое средство имеет колориметрический принцип регистрации и основано на применении золь коллоидного золота, используемых в качестве маркера антител [23].

Чувствительность иммунохроматографических тестов близка к чувствительности РНГА и ИФА, но в то же время, исключает такие стадии анализа, как сенсибилизацию полистирольных планшетов, разведение пробы, промывку, внесение хромогенных субстратов и меченных ферментной меткой антител. Методологические приемы, позволяющие многократно повысить чувствительность иммунохроматографического анализа за счет люминесцентного метода детекции, сохранили такие достоинства метода, как отсутствие многостадийности процедуры и применение минимума реагентов.

Методы экспресс-диагностики, такие как бактериоскопический, молекулярно-генетический и иммунофлуоресцентный, успешно применяются при расшифровке вспышек сибирской язвы. Опыт эпидемиологического расследования вспышки сибирской язвы в республике Бурятия в 2008 г. наглядно показывает значимость комплексного подхода применения методов экспресс-диагностики. Результаты проведенных исследований позволили в ранние сроки (через 3–5 ч от начала исследования) подтвердить клинический диагноз «сибирская язва» у за-

болевших людей, выявить источник инфекции (больное животное), определить фактор передачи (мясо) и оперативно доказать неблагополучную эпизоотолого-эпидемиологическую ситуацию на данной территории [24, 25].

В научных лабораториях многих стран постоянно разрабатываются и совершенствуются диагностические технологии для индикации и идентификации особо опасных этиологических агентов, в том числе и сибиреязвенного микроба. На современном этапе наиболее актуальным направлением является использование в диагностике сибирской язвы молекулярно-генетических методов [26–29].

В учреждениях практического здравоохранения с 2000 г. успешно применяется тест-система для выявления ДНК *B. anthracis* рХOI⁺ методом ПЦР (ГенСиб) (РосНИПЧИ «Микроб») с детекцией результатов методом электрофореза. Однако данная тест-система не позволяет дифференцировать вирулентные и авирулентные штаммы сибиреязвенного микроба, так как обнаруживает только ген *pagA*(рХOI). С целью совершенствования лабораторной диагностики на этапах идентификации внутри- и межвидовой дифференциации сибиреязвенного микроба в ЦНИИ эпидемиологии и РосНИПЧИ «Микроб» разработан набор реагентов для выявления вегетативных форм и спор *B. anthracis* *pagA* (плазмида рХOI) *capA* (плазмида рХO2) в биологическом материале и объектах окружающей среды методом ПЦР в режиме «реального времени» (Амплисенс *B. anthracis*-FRT). Диагностическая ценность набора реагентов была изучена в комиссионных испытаниях на большой выборке штаммов *B. anthracis* и близкородственных микроорганизмов, а также контаминированных проб объектов окружающей среды и биологического материала. Для предотвращения получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов в набор реагентов введен внутренний контрольный образец (ВКО). Использование подобного варианта постановки ПЦР позволяет снизить время, затрачиваемое на проведение одного анализа, за счет исключения этапа электрофореза, а также риска контаминации ампликонами реагентов или исследуемых проб [30].

Перспективность применения методов молекулярного типирования *B. anthracis* показано учеными Ставропольского НИПЧИ в рамках деятельности Референс-центра по мониторингу за возбудителем сибирской язвы. Специалисты обобщили опыт использования генотипирования при проведении эпидемиологического расследования вспышек сибирской язвы. Отмечено, что генотипирование с применением многолокусного переменного анализа (MLVA) с анализом от 8 до 25 VNTR-локусов при изучении штаммов *B. anthracis*, выделенных в Российской Федерации на сопредельных территориях, позволяет проводить корректное сравнение генотипов с данными всемирной MLVA-базы данных [31].

Возбудитель сибирской язвы до недавнего времени считался генетически высокомономорфным. Индивидуальные различия геномов штаммов стали очевидными только после внедрения наиболее результативных методов молекулярного типирования, основанных на многолокусном анализе переменных областей генома *B. anthracis*. В Ставропольском НИПЧИ разработан методический подход к генетическому типированию возбудителя сибирской язвы, состоящий в сочетании использования MLVA, анализа PCR-RFLP PA и SNR. Включение в схему PCR-RFLP PA или SNR-локуса 16 A ch дает возможность разделить штаммы из одной вспышки на группы, имею-

щие одинаковый MLVA-генотип. Проведенные исследования позволили разработать базу генотипов коллекционных штаммов сибиреязвенного микроба *B. anthracis* genotypes, выделенных в различных регионах Российской Федерации и неблагополучных по сибирской язве республиках СНГ [32–34].

В настоящее время в мировой практике молекулярное типирование возбудителя сибирской язвы проводят, применяя метод MLVA в качестве самостоятельного, а также в сочетании с другими методами. В частности, MLVA дополняют анализом медленно эволюционирующих единичных нуклеотидных полиморфизмов и единичных нуклеотидных повторов, являющихся одной из разновидностей VNTR-локусов и обладающих очень высокой частотой мутаций [35].

В оригинальном варианте MLVA выполняется с использованием флуоресцентно-меченых праймеров и анализа фрагментов амплификации в автоматическом анализаторе ДНК, что требует дорогостоящего оборудования и реактивов. Авторами предложена более доступная модификация MLVA с использованием немеченых праймеров к VNTR-локусам, электрофоретического разделения фрагментов амплификации в агарозном геле, фрагментного анализа с помощью цифровой системы визуализации и компьютерной программы [36].

Интересными в научном плане являются разработки, сделанные в ГНЦ ПМБ с использованием современных генно-инженерных методов идентификации сибиреязвенных штаммов, выделенных из почвы, с последующими сравнительными молекулярно-генетическими исследованиями. С целью повышения эффективности типирования микроорганизмов исследователями предлагаются различные комбинации методов в зависимости от поставленных задач, но, вследствие высокой генетической мономорфности сибиреязвенного микроба, предпочтение отдают мультилокусному VNTR-анализу [37].

Результаты проведенного MLVA-8-генотипирования штаммов *B. anthracis*, выделенных за последние 55 лет на территории Российской Федерации и СНГ, позволили отнести штаммы как к описанным генотипам, так и выявить уникальные генотипы с их географической привязанностью. Анализ восьми VNTR-локусов позволил определить характерный генотип, присущий штаммам с комплексом атипичных свойств, генотипические особенности штаммов *B. anthracis* с различным проявлением признаков, ассоциированных с патогенностью. Проведение ПЦР с соответствующими видоспецифическими праймерами дает возможность не только идентифицировать выделенные из почвы сибиреязвенные штаммы и оценить их эпидемическую опасность, но и провести сравнительные молекулярно-генетические исследования. Использование метода мультилокусного определения переменного числа tandemных повторов (VNTR) позволяет обнаружить значительное внутривидовое разнообразие возбудителя сибирской язвы. По результатам ретроспективного исследования можно судить о характере вспышки сибирской язвы на территории, происхождении штаммов, что имеет весьма существенное значение для эпидемиологического расследования [38].

MLVA-генотипирование и секвенирование также используются при проведении оперативного эпидемиологического расследования с целью установления причинно-следственных связей формирования эпидемического неблагополучия по сибирской язве. Применение данных методик позволяет оперативно решить вопрос в отноше-

нии выявления источника инфекции, путей и факторов передачи. При проведении лабораторного исследования материала от заболевших людей выделение культуры не всегда возможно, особенно, если отбор материала осуществлен после начала антибиотикотерапии [39].

Помимо этого использование MLVA-генотипирования при мониторинге за циркуляцией возбудителя сибирской язвы, анализе штаммов, выделенных в Российской Федерации и на сопредельных территориях, позволяет проводить корректное сравнение генотипов со всемирной MLVA-базой данных и прогнозировать возникновение вспышек сибирской язвы [40].

Р. Keim с соавторами оценивали эпидемическую значимость выделенных штаммов по результатам ПЦР с видоспецифическими праймерами и по данным многолокусного VNTR-анализа. Исследователями показана принципиальная возможность использования данной комплексной методики для типизации сибиреязвенных штаммов и их дифференциации от близкородственных микроорганизмов [41].

В настоящее время для лабораторной диагностики ряда инфекций пристальное внимание исследователей привлекают бактериофаги. Свою значимость бактериофаги приобрели как диагностические средства, позволяющие дифференцировать возбудителей инфекционных заболеваний, а также проводить более детальную дифференциацию отдельных типов и вариантов внутри данного вида. Особую ценность приобретает этот метод при идентификации атипичных по капсулообразованию, вирулентности и биохимическим свойствам штаммов сибиреязвенного микроба. По данным А. Г. Рязановой с соавторами, частота выделения атипичных штаммов возбудителя сибирской язвы приблизительно равна частоте выделения штаммов, ошибочно идентифицированных как *B. anthracis* [42]. Это объясняется общностью свойств *B. anthracis* с близкородственными микроорганизмами рода *Bacillus*, что значительно затрудняет их идентификацию.

Создание препаратов для фагоидентификации бактерий основано на лизисе, сопровождающимся выходом в среду новых вирионов фага. Возможность фагоидентификации вытекает из специфичности действия фагов, которая может быть настолько выражена, что позволяет дифференцировать не только отдельные виды, но и серологически неотличимые штаммы в пределах одного вида [43]. В связи с этим, все большее число исследователей предпочитают обращаться к фаговому тесту, способному дифференцировать близкородственные штаммы. В СтавНИПЧИ разработан бактериофаг диагностический сибиреязвенный Гамма А-26, представляющий собой стерильный фильтрат фаголизата бульонной культуры штамма *B. anthracis* 228/8, содержащий взвесь частиц фага Гамма А-26, обладающих лизирующим действием в отношении штаммов *B. anthracis*. Результаты проведенных комиссионных испытаний свидетельствуют о широком диапазоне литического спектра бактериофага и подтверждают возможность его использования при идентификации штаммов *B. anthracis* в лабораторной диагностике [44].

Особый научный интерес представляют разработки питательных сред для выделения и идентификации возбудителя сибирской язвы. Используемым в настоящее время питательным средам свойственны те или иные недостатки [45]. В некоторых случаях — это нестабильность проявления дифференцирующих признаков, например, фосфатазобразования, продукции лецитиназы и других биохимических особенностей *B. anthracis* и близкородст-

венных бацилл. В других — невозможность проведения внутривидовой дифференциации штаммов *B. anthracis* (вирулентных и аттенуированных).

Заслуживают внимания исследования специалистов ГНЦ ПМБ по конструированию дифференциально-диагностической питательной среды для выделения и идентификации возбудителя сибирской язвы с дополнительным внесением антибиотика, позволяющей дифференцировать по цвету и морфологии колонии вирулентных (капсулообразующих) и авирулентных (бескапсульных) штаммов *B. anthracis*, а также близкородственных сапрофитных микроорганизмов [45, 46].

Одним из перспективных направлений развития экспресс-индикации возбудителей инфекционных заболеваний считается энзимоиндикационное, связанное с наличием у микроорганизма определенных биохимических свойств, отличающих его от других представителей данного рода. Это направление может быть реализовано посредством использования дифференциально-диагностических питательных сред.

Таким образом, анализ литературы свидетельствует о том, что научные исследования многих стран мира направлены на разработку и совершенствование диагностических технологий для обнаружения и идентификации опасных этиологических агентов, одним из которых является сибиреязвенный микроб. Учитывая вышеизложенное, следует отметить, что пути совершенствования диагностических сибиреязвенных препаратов должны предусматривать разработку и внедрение в практическое здравоохранение новых препаратов для замены устаревших и малоэффективных, а также препаратов, основанных на современных технологиях многофакторного анализа (мультиплексная ПЦР, масс-спектрометрия, xMAP-многопараметрический флуоресцентный анализ, биочипы и др.).

Литература

1. Абрамов ДД, Воробьев АА, Кузнецовский АВ, Савиных АВ, Онучина НВ, Дармов ИВ, Трофимов ДЮ, Кузнецов СЛ. Разработка и испытания молекулярно-биологической тест-системы для выявления ДНК возбудителя сибирской язвы методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Клиническая лабораторная диагностика 2011; (3): 46–50.
2. Антогуанов СН, Рязанова АГ, Еременко ЕИ, Куличенко АН. Сибирская язва в Российской Федерации и за рубежом. Эпидемиология и инфекционные болезни 2012; (5): 4–8.
3. Буровцева НП, Мицаев ШШ, Мезенцев ВМ, Рязанова АГ, Еременко ЕИ, Куличенко АН. Эпизоотологическая и эпидемиологическая обстановка по сибирской язве в Чеченской Республике и Республике Дагестан. Эпидемиология и инфекционные болезни 2011; (3): 10–5.
4. Artenstein AW. Anthrax: from antiquity to answers. J Infect Dis. 2007; 195(4): 471–3.
5. Саяпина ЛВ, Абдрашитова АС, Комратов АВ, Ращепкин ЛИ, Осин АВ, Храмов МВ и др. Характеристика новых препаратов для диагностики сибирской язвы по данным медицинских испытаний. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 23–24 мая 2012. Ставрополь: Экспо-Медиа; 2012.
6. Шарова ИН, Казакова ЕС, Карнаухов ИГ, Щербаков ДА, Щербакова СА, Самойлова ЛВ и др. Принципы организации и проведение лабораторной диагностики в мобильной лаборатории индикации для осуществления эпизоотологического мониторинга особо опасных и других природно-очаговых инфекций. Проблемы особо опасных инфекций 2012; (3): 94–6.
7. Egren J, Hamidjaja Raditijo A, Hansen T, Ruuls R, Thierry S, et al. In silico and in vitro evaluation of PCR-based assays for the detec-

- tion of *Bacillus anthracis* chromosomal signature sequences. *J Virulence* 2013; 4(8): 671–85.
8. Шарова ИН, Казакова ЕС, Портенко СА, Красовская ТЮ, Осина НА, Куклев ВЕ. и др. Совершенствование и стандартизация лабораторной диагностики особо опасных, «новых» и «возвращающихся» инфекционных болезней. Проблемы особо опасных инфекций 2013; (2): 46–8.
 9. Katman WE, Hulst AG., Roffel S, van der Schans M, Merkel T, van Belkum A, Bikker GJ. Peptide-based fluorescence resonance energy transfer protease substrates for the detection and diagnosis of *Bacillus* species. *Anal Chem.* 2011; 83(7): 2511–7.
 10. Куличенко АН, Еременко ЕИ, Буравцева НП, Рязанова АГ. Диагностика сибирской язвы в Российской Федерации. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2010; (5): 62–6.
 11. Саяпина ЛВ, Малахаева АН, Касина ИВ, Барулина ИС. Анализ качества диагностических флуоресцирующих иммуноглобулинов, используемых для выявления возбудителей особо опасных инфекций. Биопрепараты 2007; (2): 26–8.
 12. Лобач РН, Абдрашитова АС, Саяпина ЛВ. Испытания сибиреязвенных флуоресцирующих иммуноглобулинов, предназначенных для выявления возбудителя сибирской язвы. Биопрепараты 2013; (4): 29–33.
 13. Баркова ИА, Алексеев ВВ, Липницкий АВ, Барков АМ. Использование иммуноглобулинов сибиреязвенной монорецепторной сыворотки для идентификации *Bacillus anthracis* в МФА. В кн.: Материалы IX Межгосударственной научно-практической конференции государств-участников СНГ. 30 сентября — 2 октября 2008. Волгоград: ВолгГМУ; 2008.
 14. Маринин ЛИ, Дятлов ИА, Мокриевич АН, Бахтеева ИВ, Белова ЕВ, Борзилов АИ и др. Методы изучения биологических свойств возбудителя сибирской язвы. М.: Гигиена; 2009.
 15. Барков АМ, Баркова ИА, Алексеев ВВ, Липницкий АВ, Кулаков МЯ. Обнаружение антител к протективному антигену *Bacillus anthracis* с использованием реакции непрямой геммагглютинации и твердофазного иммуноферментного метода. Проблемы особо опасных инфекций 2010; 105: 42–5.
 16. Öncü Serkan, Öncü Selen, Serhan Sakarya. Anthrax — an overview. *Med Sci Monit*. 2003; 9(11): 276–83.
 17. Терешкина НЕ, Девдариани ЗЛ. Современное состояние проблемы иммунодетекции возбудителя сибирской язвы. Проблемы особо опасных инфекций 2008; (1): 44–8.
 18. Шишкова НА, Кравченко ТБ, Маринин ЛИ, Мокриевич АН. Идентификация возбудителя сибирской язвы, выделенного из почвы скотомогильника. Проблемы особо опасных инфекций 2011; (4): 53–6.
 19. Хлынцева АЕ, Лунева НМ, Белова ЕВ, Дятлов ИА, Шемакин ИГ. Разработка и испытания диагностикума на основе моноклональных антител для определения спор возбудителя сибирской язвы в реакции латекс-агглютинации. Проблемы особо опасных инфекций 2011; (4): 71–5.
 20. Кравец ЕВ, Дугаржапова ЗФ, Родзиковский АВ, Хлынцева АЕ, Лунева НМ, Белова ЕВ и др. Применение методов латекс-агглютинации и иммунохроматографии для ускоренной идентификации культур *Bacillus anthracis* при эпидемиологических расследованиях вспышек. Проблемы особо опасных инфекций 2011; (1): 81–2.
 21. Хлынцева АЕ, Баранов АМ, Белова ЕВ, Шемакин ИГ, Маринин ЛИ, Дятлов ИА. Изучение свойств моноклональных антител для разработки иммунохроматографического стрип-теста с целью определения спор возбудителя сибирской язвы. В кн.: Материалы IX Межгосударственной научно-практической конференции государств-участников СНГ. 30 сентября — 2 октября 2008. Волгоград: ВолгГМУ; 2008.
 22. Соловьев ПВ, Баранова ЕВ, Рудницкий СЮ, Королева-Ушакова АГ, Колосова НВ, Бикетов СФ. Разработка иммунохроматографических тестов для идентификации спор и вегетативных клеток *B. anthracis*. Материалы научно-практической школы-конференции молодых ученых и специалистов научно-исследовательских организаций Роспотребнадзора. 25–27 мая 2010 г. Оболенск: А-ПРИНТ; 2010.
 23. Ярков СП, Шиленко ИВ, Скопинская СН, Злобин ВН. Комплект для выявления возбудителей особо опасных заболеваний и токсинов люминесцентным иммунохроматографическим анализом. Проблемы особо опасных инфекций 2008; (2): 46–9.
 24. Горобец ЕА. Разработка иммунобиологических препаратов для диагностики сибирской язвы: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ставрополь; 2009.
 25. Дугаржапова ЗФ, Родзиковский АВ, Чеснокова МВ, Балахонов СВ, Болошинов АБ, Ханхареес СС. и др. Эпизоотолого-эпидемиологический анализ ситуации по сибирской язве в Республике Бурятия (1995–2008). Эпидемиология и инфекционные болезни 2010; (6): 11–5.
 26. Гарианина СБ, Тучков ИВ, Куличенко АН, Куклев ЕВ, Пикалов ИН. Использование ПЦР-анализа при работе в очаге сибирской язвы. В кн.: Сборник тезисов докладов 3-й Всероссийской научно-практической конференции 25–27 января 2000 г. Москва. М.; 2000.
 27. Еременко ЕИ, Рязанова АГ, Цыганкова ЕА, Цыганкова ОИ, Куличенко АН. Генотипические особенности штаммов *Bacillus anthracis* с разным проявлением признаков, ассоциированных с патогенностью. Проблемы особо опасных инфекций 2010; (2): 53–6.
 28. Чеканова ТА, Кирдяшкова НП, Пудова ЕА, Сажин АИ, Судьина АЕ, Маркелов МЛ, Шипулин ГА. Наборы реагентов для идентификации возбудителей особо опасных инфекций в формате иммуночипов и ДНК-чипов. Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. Москва; 2013. С. 441–2.
 29. Яцышина СБ, Обухов ИЛ, Кириллов ЛВ, Саленко ЛС, Шмаргунов БИ, Шипулин ГА. Применение мультиплексной ПЦР для идентификации вирулентных форм возбудителей сибирской язвы. Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции. Тверь; 2002.
 30. Абдрашитова АС, Саяпина ЛВ, Малахаева АН, Осина НА. Оценка эффективности наборов реагентов «Амплисенс» для индикации возбудителей особо опасных инфекций методом ПЦР в режиме «реального» времени. Здоровье населения и среда обитания 2013; (1): 32–4.
 31. Цыганкова ЕА, Еременко ЕИ, Рязанова АГ, Цыганкова ОИ, Куличенко АН. Мультиплексная ПЦР-тест система для обнаружения возбудителя сибирской язвы с детекцией результатов в формате «реального времени». Проблемы особо опасных инфекций 2013; (1): 81–4.
 32. Кутыров ВВ, Смирнова НИ. Генодиагностика и молекулярное типирование возбудителей чумы, холеры и сибирской язвы. Молекулярная генетика, микробиология, вирусология 2003; (1): 6–14.
 33. Цыганкова ЕА, Еременко ЕИ, Цыганкова ОИ, Рязанова АГ. Полиморфизм гена протективного антигена у вариантов штаммов *Bacillus anthracis*, обнаруживаемый методом PCR RFLP анализа. В кн.: Материалы IX Межгосударственной научно-практической конференции государств-участников СНГ. 30 сентября — 2 октября 2008. Волгоград: ВолгГМУ; 2008.
 34. Harrell LJ, Andersen GL, Wilson KH. Genetic variability of *Bacillus anthracis* and related species. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(7): 1847–50.
 35. Лиманская ОЮ, Муртазаева ЛА, Klee S, Лиманский АП. Молекулярные технологии детекции возбудителя сибирской язвы посредством ПЦР различных форматов. Биотехнология 2013; (3): 86–96.
 36. Ezzell JW, Abshire T, Ibrahim S, Teska J, et al. Identification of *Bacillus anthracis*: an overview. 3rd International Conference on Anthrax. Plymouth, England, 7–10 Sept., 1998.
 37. Шишкова НА, Мокриевич АН, Платонов МЕ, Светоч ТЭ, Маринин ЛИ. Изучение генетического разнообразия штаммов сибиреязвенного микроба из коллекции ГНЦ ПМБ. Проблемы особо опасных инфекций 2010; (2): 60–5.
 38. Рязанова АГ, Еременко ЕИ, Цыганкова ОИ, Цыганкова ЕА, Куличенко АН. Использование методов молекулярного типирования *Bacillus anthracis* в Референс-центре по мониторингу за возбудителем сибирской язвы. Проблемы особо опасных инфекций 2011; (4): 68–70.
 39. Амосов МЮ, Кузнецовский АВ, Сероглазов ВВ, Савиных АВ, Онучина НВ, Воробьев АА, и др. Идентификация и дифференциация микробных культур возбудителя сибирской язвы, выделенных на территории Южного федерального округа в мае 2007 г. Молекулярная медицина 2011; (6): 43–8.

40. Beyer W, Turnbull PCB. Anthrax in animals. *Molecular Aspects of Medicine* 2009; 30(6): 481–9.
41. Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J Bacteriol*. 2000; 182(10): 2928–36.
42. Рязанова АГ, Еременко ЕИ, Цыганкова ОИ, Цыганкова ЕА. Усовершенствование методов идентификации атипичных штаммов возбудителя сибирской язвы и их дифференциация от близкородственных бацилл. *Журнал микробиология, эпидемиология и иммунология* 2009; (3): 76–80.
43. Ризвава С, Натидзе М, Бубашвили М, Гогаишвили Д, Вардзелашвили Н. Идентификация штаммов *B. anthracis*, выделенных из различных объектов, и серодиагностика сибирской язвы. *Аллергология и иммунология* 2010; 2(11): 123–5.
44. Головинская ТМ, Буравцева НР, Цыганкова ОИ, Еременко ЕИ. Сравнительное изучение литической активности и специфичности экспериментальных серий сибирезывенных бактериофагов Гамма А-26, К ВИЭВ, ВА-9 и Fah-BH ИИВВУМ. *Проблемы особо опасных инфекций* 2011; (3): 28–30.
45. Желудкова ЕВ, Климов ВИ, Бывалов АА, Зиганшин РШ, Ковтун ВП. Совершенствование системы контроля качества питательных сред, используемых в микробиологии. В кн.: *Диагностика, лечение и профилактика опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология. Ветеринария. Матер. юбилейной науч. конф., посвященной 70-летию НИИ микробиологии МО РФ*. 1998. С. 298–299.
46. Говорунова ВА, Маринин ЛИ, Миронова РИ, Храмов МВ, Мокричев АН, Баранов АМ. Диагностическая питательная среда для выделения и идентификации возбудителя сибирской язвы. *Проблемы особо опасных инфекций* 2012; (2): 82–4.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.

Саяпина Лидия Васильевна. Главный эксперт Управления экспертизы противобактериальных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук.

Бондарев Владимир Петрович. Директор Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Никитюк Надежда Федоровна. Главный эксперт Управления экспертизы противобактериальных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Федеральное государственное казенное учреждение «294 Центр спасательных операций особого риска» Министерства чрезвычайных ситуаций Российской Федерации. Российская Федерация, 142771, Москва, поселок завода Мосрентген, Музыкальный проезд.

Лобач Роман Николаевич. Начальник группы биологической защиты.

Адрес для переписки: Саяпина Лидия Васильевна; Sayapina@expmed.ru

Current status of the laboratory diagnosis of anthrax: detection and identification of *Bacillus anthracis*

L. V. Sayapina¹, R. N. Lobach², V. P. Bondarev¹, N. F. Nikityuk¹

¹ Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Federal State-Owned Institution «294th Center for Extra-Risk Rescue Operations» of the Ministry of Emergency Situations of the Russian Federation, Moscow, Russia

The present article summarizes the materials from literary sources dedicated to the issues of laboratory diagnosis of anthrax. It shows the priority of the development of new methods for the elaboration of highly sensitive test systems and preparations designed for the detection and identification of anthrax bacteria. It outlines the role of express-diagnostics of infectious diseases, which is very important when investigating bioterrorism cases, outbreaks and sporadic cases in humans and animals. Providing with the analysis of different methods for detection of anthrax, the article at the same time focuses on modern molecular diagnostic technologies. It is shown that the basic parameters of diagnostic test systems are sensitivity, specificity and reproducibility of the results. The article presents data on the development of culture media for isolation and identification of anthrax, as well as the possibility of using anthrax bacteriophage for phage-based indication and identification of bacteria.

Key words: anthrax; detection; identification; diagnostic preparations; test systems; molecular genetic methods.

For citation: Sayapina LV, Lobach RN, Bondarev VP, Nikityuk NF. Current status of the laboratory diagnosis of anthrax: detection and identification of *Bacillus anthracis*. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16 (1): 27–34.

References

1. Abramov DD, Vorobyev AA, Kuznetsovsky AV, Savinykh AV, Onuchina NV, Darmov IV, et al. The development and testing of a molecular biological test systems for DNA detection of anthrax pathogen by real-time polymerase chain reaction assay. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* 2011; (3): 46–50 (in Russian).
2. Antyuganov SN, Ryzanova AG, Eremenko EI, Kulichenko AN. Anthrax in the Russian Federation and abroad. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni* 2012; (5): 4–8 (in Russian).
3. Buravtseva NP, Mitsaev ShSh, Mezentsev VM, Ryzanova AG, Eremenko EI, Kulichenko AN. Epizootologic and epidemiological situation on anthrax in the Chechen Republic and the Republic of Dagestan. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni* 2011; (3): 10–5 (in Russian).
4. Artenstein AW. Anthrax: from antiquity to answers. *J Infect Dis*. 2007; 195(4): 471–3.
5. Sayapina LV, Abdrashitova AS, Komratov AV, Rashchepkin LI, Osin AV, Hramov MV, et al. Characteristics of new drugs for the diagnosis of anthrax according to medical tests. *Materials of All-Russian scientific-practical conference with international participation. May 23–24, 2012. Stavropol: Expo-Media; 2012* (in Russian).

6. Sharova IN, Kazakova ES, Karnauhov IG, Shcherbakov DA, Shcherbakova SA, Samoylova LV, et al. Principles of the organization and carrying out of laboratory diagnostics in the display of mobile laboratories for epizootologic monitoring of especially dangerous and other natural focal infections. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; (3): 94–6 (in Russian).
7. Egren J, Hamidjaja Raditijo A, Hansen T, Ruuls R, Thierry S, et al. In silico and in vitro evaluation of PCR-based assays for the detection of *Bacillus anthracis* chromosomal signature sequences. *J Virulence* 2013; 4(8): 671–85.
8. Sharova IN, Kazakova ES, Portenko SA, Krasovskaya TYu, Osina NA, Kuklev VE, et al. Improving and standardizing laboratory diagnosis of highly dangerous, "new" and "returning" infectious diseases. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; (2): 46–8 (in Russian).
9. Kaman WE, Hulst AG., Roffel S, van der Schans M, Merkel T, van Belkum A, Bikker FJ. Peptide-based fluorescence resonance energy transfer protease substrates for the detection and diagnosis of *Bacillus* species. *Anal Chem.* 2011; 83(7): 2511–7.
10. Kulichenko AN, Eremenko EI, Buravtseva NP, Ryazanova AG. Diagnosis of anthrax in the Russian Federation. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, Immunobiologii* 2010; (5): 62–6 (in Russian).
11. Sayapina LV, Malahaeva AN, Kasina IV, Barulina IS. Analysis of the quality of diagnostic fluorescent antibodies used to detect pathogens of especially dangerous infections. *Biopreparaty* 2007; (2): 26–8 (in Russian).
12. Lobach RN, Abdrashitova AS, Sayapina LV. Tests anthrax fluorescent antibodies for the detection of the causative agent of anthrax. *Biopreparaty* 2013; (4): 29–33 (in Russian).
13. Barkova IA, Alexeev VV, Lipnitsky AV, Barkov AM. The use of mono-receptor anthrax serum immunoglobulins to identify *Bacillus anthracis* in the IAF. In: Proceedings of the IX Interstate Scientific and Practical Conference of CIS member states. September 30 — October 2, 2008. Volgograd: VolgGMU; 2008 (in Russian).
14. Marinin LI, Dyatlov IA, Mokrievich AN, Bahteeva IV, Belova EV, Borzilov AI, et al. Methods of studying the biological properties of anthrax. Moscow: Gigiena; 2009 (in Russian).
15. Barkov AM, Barkova IA, Alexeev VV, Lipnitsky AV, Kulakov MYa. Detection of antibodies to *Bacillus anthracis* protective antigen using the indirect hemagglutination, and ELISA method. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; 105: 42–5 (in Russian).
16. Öncü Serkan, Öncü Selcen, Serhan Sakarya. Anthrax — an overview. *Med Sci Monit.* 2003; 9(11): 276–83.
17. Tereshkina NE, Devdariani ZL. Current status of the immunodetection of anthrax. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2008; (1): 44–8 (in Russian).
18. Shishkova NA, Kravchenko TB, Marinin LI, Mokrievich AN. Identification of anthrax isolated from cattle burial ground. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; (4): 53–6 (in Russian).
19. Hlyntseva AE, Luneva NM, Belova EV, Dyatlov IA, Shemyakin IG. Development and testing diagnostic kit based on monoclonal antibodies to determine the anthrax pathogen in the reaction of latex agglutination. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; (4): 71–5 (in Russian).
20. Kravets EV, Dugarzhapova ZF, Rodzikovskiy AV, Hlyntseva AE, Luneva NM, Belova EV, et al. Application of latex agglutination and immunochromatography for rapid identification of *Bacillus anthracis* cultures in epidemiological investigations of outbreaks. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; (1): 81–2 (in Russian).
21. Hlyntseva AE, Baranova EV, Belova EV, Shemyakin IG, Marinin LI, Dyatlov IA. The study of the properties of monoclonal antibodies for the development of immunoassay test strip to determine the anthrax pathogen. In: Proceedings of the IX Interstate Scientific and Practical Conference of CIS member states. September 30 — October 2, 2008. Volgograd: VolgGMU; 2008 (in Russian).
22. Soloviev PV, Baranova EV, Rudnitskiy SYu, Koroleva-Ushakova AG, Kolosova NV, Biketov SF. Development of immunoassay for identification of spores and vegetative cells of *B. anthracis*. Materials of scientific-practical school-conference of young scientists and specialists of research organizations of Rosпотребнадзор. 25–27 May 2010. Obolensk: A-PRINT; 2010 (in Russian).
23. Yarkov SP, Shilenko IV, Skopinskaya SN, Zlobin VN. Kit for the detection of pathogens of dangerous diseases and toxins fluorescent immunochromatographic analysis. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2008; (2): 46–9 (in Russian).
24. Gorobets EA. Development of immunobiological preparations for the diagnosis of anthrax. Dr. Biol. Sci [thesis]. Stavropol; 2009 (in Russian).
25. Dugarzhapova ZF, Radzihovskiy AV, Chesnokova MV, Balahonov SV, Boloshinov AB, Hanhareev SS, et al. Epizootic and epidemiological analysis of the situation on anthrax in the Republic of Buryatia (1995–2008). *Epidemiologiya Infektsionnye Bolezni* 2010; (6): 11–5 (in Russian).
26. Garanina SB, Tuchkov IV, Kulichenko AN, Kuklev EV, Pikalov IN. Using PCR with the locus to anthrax. In: Abstracts of the 3rd All-Russian scientific-practical conference on 25–27 January 2000. Moscow; 2000 (in Russian).
27. Eremenko EI, Ryazanova AG, Tsygankova EA, Tsygankova OI, Kulichenko AN. Genotype peculiarities of *Bacillus anthracis* strains of different manifestation of symptoms associated with pathogenicity. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; (2): 53–6 (in Russian).
28. Chekanova TA, Kirdyashkina NP, Pudova EA, Sazhin AI, Sudyina AE, Markelov ML, Shipulin GA. Kits of reagents for the identification of causative agents of especially dangerous infections in immunochips format and DNA chips. Proceedings of the V Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases. Moscow; 2013. P. 441–2 (in Russian).
29. Yatsyshina SB, Obukhov IL, Kirillov LV, Salenko LS, Shmargun BI, Shipulin GA. Application of multiplex PCR for identification of virulent forms anthrax. Proceedings of the IV All-Russian scientific-practical conference. Tver; 2002 (in Russian).
30. Abdrashitova AS, Sayapina LV, Malahaeva AN, Osina NA. Evaluating the effectiveness of a set of "Amplisens" reagents for indications of particularly dangerous infections by PCR in "real" time. *Zdorovie Naseleniya Sreda Obitaniya* 2013; (1): 32–4 (in Russian).
31. Tsygankova EA, Eremenko EI, Ryazanova AG, Tsygankova OI, Kulichenko AN. Multiplex PCR Test system for the detection of anthrax to the detection results in "real time" format. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; (1): 81–4 (in Russian).
32. Kutyrev VV, Smirnova NI. Molecular diagnostics and molecular typing of pathogens of plague, cholera and anthrax. *Molekularnaya Genetika, Mikrobiologiya, Virusologiya* 2003; (1): 6–14 (in Russian).
33. Tsygankova EA, Eremenko EI, Tsygankova OI, Ryazanova AG. Polymorphism of gene variants of protective antigen from *Bacillus anthracis* strains detected by PCR RFLP analysis. In: Proceedings of the IX Interstate Scientific and Practical Conference of CIS member states. September 30 — October 2, 2008. Volgograd: VolgGMU; 2008 (in Russian).
34. Harrell LJ, Andersen GL, Wilson KH. Genetic variability of *Bacillus anthracis* and related species. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(7): 1847–50.
35. Limanskaya OYu, Murtazayeva LA, Klee S, Limanskiy AP. Molecular technologies of anthrax detection by PCR of different formats. *Biotekhnologiya* 2013; (3): 86–96 (in Russian).
36. Ezzell JW, Abshire T, Ibrahim S, Teska J, et al. Identification of *Bacillus anthracis*: an overview. 3rd International Conference on Anthrax. Plymouth, England, 7–10 Sept., 1998.
37. Shishkova NA, Mokrievich AN, Platonov ME, Svetoch TE, Marinin LI. The study of genetic diversity of strains of the anthrax microbe collection of GNC PMB. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; (2): 60–5.
38. Ryazanova AG, Eremenko EI, Tsygankova OI, Tsygankova EA, Kulichenko AN. Application of *Bacillus anthracis* molecular typing methods by the Reference Center for the anthrax agent monitoring. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; (4): 68–70.
39. Amosov MYu, Kuznetsovsky AV, Seroglazov VV, Savinyh AV, Onuchina NV, Vorobiev AA, et al. Identification and differentiation of microbial cultures of anthrax allocated to the Southern Federal District in May 2007. *Molekulyarnaya Meditsina* 2011; (6): 43–8 (in Russian).
40. Beyer W, Turnbull PCB. Anthrax in animals. *Molecular Aspects of Medicine* 2009; 30(6): 481–9.
41. Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J Bacteriol.* 2000; 182(10): 2928–36.
42. Ryazanova AG, Eremenko EI, Tsygankova OI, Tsygankova EA, Kulichenko AN. The use of molecular typing of *Bacillus anthracis* in the Reference Center for monitoring anthrax. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; (4): 68–70 (in Russian).

43. Rigvava S, Natidze M, Bubashvili M, Gogiashvili D, Vardzelashvili N. Identification of the *Bacillus anthracis* strains, isolated from different objects and serological diagnostics of anthrax. *Allergologiya Immunologiya* 2010; **2**(11): 123–5 (in Russian).
44. Golovinskaya TM, Buravtseva NP, Tsygankov OI, Eremenko EI. Comparative study of political activity and specificity of the experimental series of anthrax bacteriophage Gamma A-26, K VIEV, BA-9 and BH-Fah II VViM. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; (3): 28–30 (in Russian).
45. Zheludkova EV, Klimov VI, Byvalov AA, Ziganshin RSh, Kovtun VP. Improving the system of quality control of culture media used in microbiology. In: *Diagnosis, treatment and prevention of infectious diseases. Biotechnology. Veterinary Medicine. Mater. Yubileinoi nauch. konf.* 1998. P. 298–299.
46. Govorunova VA, Marinin LI, Mironova RI, Hramov MV, Mokrievich AN, Baranov AM. Diagnostic culture medium for the isolation and identification of anthrax. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; (2): 82–4 (in Russian).

Authors

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8–2 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Sayapina LV. Chief expert of Office of expertise of antibacterial medical immunobiological preparations of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences.

Bondarev VP. Director of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

Nikityuk NF. Chief expert of Office of expertise of antibacterial medical immunobiological preparations of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

The Federal State Governmental Institution «294 Centre of Special Risk Rescue» of the Ministry of Emergency Situations of the Russian Federation. Musical passage, settlement of Mosrentgen plant, Moscow, 1427711, Russian Federation.

Lobach RN. Head of the group of biological protection.

Организация иммунопрофилактики лиц с нарушениями в состоянии здоровья

Н. Ф. Никитюк¹, В. А. Глущенко², И. В. Панин³

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

«Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

³ Федеральное государственное казенное учреждение «1026 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора» Министерства обороны Российской Федерации, Самара, Россия

Поступила 28.01.2016. Принята к публикации 17.02.2016.

Вакцинопрофилактика признана одним из самых эффективных способов управления эпидемическим процессом при ряде инфекционных заболеваний. Многолетний опыт применения вакцинных препаратов доказал неоспоримую значимость профилактических прививок в борьбе с такими серьезными заболеваниями, как натуральная оспа, полиомиелит, дифтерия, столбняк, корь, коклюш, краснуха, эпидемический паротит и другие. Уровень заболеваемости указанными инфекциями зависит от показателя охвата профилактическими прививками, который должен быть не ниже 95%. Достижение данного показателя является серьезной проблемой здравоохранения, поскольку ежегодно растет число медицинских отводов от профилактических прививок за счет детей, имеющих различные нарушения в состоянии здоровья. Привлечение к иммунизации детей данной категории представляет значительный резерв повышения показателей привитости населения. В статье изложены основные научно-методические подходы к иммунизации лиц с нарушениями в состоянии здоровья. Авторы обобщили опыт отечественных исследователей и на основании современных научно-практических достижений по иммунизации детей из групп риска представили основные тактические способы, позволяющие привлечь к иммунизации данную когорту детей. Приведенные научно-методические подходы позволяют повысить уровень привитости населения, тем самым защитить от заражения инфекционными заболеваниями, управляемые средствами специфической профилактики.

Ключевые слова: вакцинопрофилактика; иммунизация; иммунологический контроль; группы риска; вакцинные препараты; охват профилактическими прививками.

Библиографическое описание: Никитюк НФ, Глущенко ВА, Панин ИВ. Организация иммунопрофилактики лиц с нарушениями в состоянии здоровья. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; 16 (1): 35–42.

Одним из самых эффективных и экономически целесообразных способов управления эпидемическим процессом, признана вакцинопрофилактика [1, 2]. В настоящее время создано более 100 вакцин для борьбы с более чем 40 заболеваниями. Опыт реализации Глобальной программы иммунизации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) доказал эпидемиологическую и экономическую эффективность вакцинопрофилактики. В 1960-е годы были сформированы первые программы ВОЗ по вакцинопрофилактике инфекций, в частности, по ликвидации натуральной оспы. Глобальная ликвидация натуральной оспы и успехи региональных программ ликвидации полиомиелита позволили ВОЗ разработать Стратегический план по элиминации кори, краснухи и предупреждению врожденной краснухи на 2002–2005 гг. [3].

За последнее десятилетие достигнуты колоссальные успехи в борьбе с указанными заболеваниями, ежегодные показатели заболеваемости корью и краснухой снижались в среднем на 85–90%. В России за время, прошедшее с начала массовой плановой вакцинопрофилактики (с 1967), заболеваемость корью сократилась почти в 100 раз, а эпидемическим паротитом (с 1983 г.) — в 28 раз. Однако на 60 сессии Европейского регионального комитета ВОЗ (2010 г.) были приведены данные о повышении уровня заболеваемости корью в странах Центральной и Западной Европы. За последние годы отмечается медленное снижение уровня охвата иммунизацией против кори и на территории России, что приводит к появлению когорты восприимчивых лиц, которые могут поддерживать циркуляцию

возбудителей и способствовать возникновению вспышек [4].

Несмотря на достигнутые успехи в борьбе с инфекционными заболеваниями, в мире ежегодно погибает 12 млн. детей от инфекций, потенциально управляемых методами иммунопрофилактики [5].

По отчетным данным Роспотребнадзора ежегодно в России регистрируется в среднем около 40 млн. инфекционных больных, что связано в основном с ростом заболеваемости острыми инфекциями верхних дыхательных путей и гриппом [6].

Факторы, влияющие на уровень заболеваемости управляемыми инфекциями

Опыт вакцинопрофилактики XX века наглядно показывает, что при прекращении иммунизации или снижении ее объема происходит активизация длительно не регистрировавшихся или спорадически проявляющихся инфекций, перерастающих в ряде случаев в эпидемию. Основной причиной высокого уровня заболеваемости корью, коклюшем, дифтерией, эпидемическим паротитом являются серьезные недостатки в организации и проведении иммунизации населения. Кроме того, немаловажное значение имеет массовая и агрессивная кампания в средствах массовой информации о вреде прививок и, как следствие, низкий уровень коллективного иммунитета [7].

Известно, что появление возбудителя инфекционного заболевания среди восприимчивых лиц может приводить

к тяжелым последствиям. Так, в России, в середине 90-х годов XX века, когда практически была ликвидирована дифтерия, из-за резкого снижения уровня охвата прививками на фоне снижения коллективного иммунитета заболело более 100 000 человек. Прекращение вакцинопрофилактики полиомиелита в Чечне в 1995 г. привело к вспышке заболеваемости полиомиелитом с общим числом заболевших — 144 человека. Оперативное проведение противоэпидемических мероприятий по созданию невосприимчивости к возбудителю дифтерии и полиомиелита, а именно введение соответствующих вакцинных препаратов, позволило снизить заболеваемость, тем самым упредив развитие эпидемического процесса на территории Чечни.

Отечественный и зарубежный опыт прививочной работы убедительно свидетельствует о том, что эффективность проведенной иммунопрофилактики определяется уровнем охвата профилактическими прививками. Доказано, что значительные и стойкие результаты в снижении заболеваемости достигаются лишь при показателе охвата профилактическими прививками не ниже 95–97% населения в декретированные сроки иммунизации [8, 9].

Достижение достаточно высокого уровня привитости населения остается весьма серьезной проблемой здравоохранения, решение которой зависит от ряда факторов. Одна из главных причин низкого показателя охвата прививками связана с необоснованными медицинскими отводами от введения вакцинных препаратов. В ряде случаев медицинские противопоказания к проведению иммунизации являются длительными и, зачастую, постоянными. Анализ причин непривитости как детей, так и взрослых выявил недостаточную обоснованность освобождения от прививок и характерные ошибки. По данным официальной статистики, ежегодно в России возрастает число детей, имеющих различные нарушения со стороны органов и систем, показатель привитости в декретированных группах населения во многом отстает от нормативного. Такая ситуация создает реальную угрозу возникновения и распространения инфекций на территории РФ [10, 11].

Ослабленные, длительно и часто болеющие дети составляют большую прослойку не иммунных лиц и относятся к группе риска заражения инфекционными заболеваниями. Учитывая, что дети с различной патологией составляют не менее половины от общего числа детей первых трех лет жизни, привлечение их к иммунизации представляет значительный резерв повышения показателей привитости населения [10, 12].

Более того, не привитые дети в течение длительного времени подвержены не только высокому риску заболевания, но и, в случае заражения соответствующей инфекцией, возникновением тяжелых осложнений, зачастую приводящих к летальному исходу.

С целью повышения уровня привитости населения необходимо внедрение дифференцированного отбора лиц на иммунизацию с учетом перечня противопоказаний к разным видам иммунобиологических препаратов. Кроме того, необходим систематический контроль за лицами, временно освобожденными от прививки и проведение им комплекса лечебно-оздоровительных мероприятий с последующей иммунизацией.

Целенаправленный отбор лиц для проведения профилактических прививок, индивидуальная реабилитация, осуществление иммунологического контроля до и после вакцинации обеспечат качественное формирование поствакцинального иммунитета достаточной напряженно-

сти. Такой подход к организации и проведению иммунизации обеспечит надежную защиту лиц от инфекций, управляемых средствами специфической профилактики, тем самым повысит уровень привитости населения обслуживаемой территории [10, 11, 13].

Обоснованность иммунизации лиц с нарушенным состоянием здоровья

Одной из причин низкого охвата населения профилактическими прививками являются медицинские отводы, которые зачастую не обоснованы. Официальная статистика свидетельствует о все возрастающем числе детей и подростков, имеющих различные заболевания в анамнезе, что служит причиной незащищенности их от прививаемых инфекционных заболеваний [4, 6, 12].

Все противопоказания к профилактическим прививкам делятся на постоянные (абсолютные) и временные (относительные). Термин «постоянные противопоказания» в настоящее время применяется все реже, поскольку разработанные индивидуальные схемы иммунизации для детей, в анамнезе которых имеются серьезные нарушения органов и систем, позволяют шире привлекать к иммунизации детей групп риска заражения. Детей, имеющих постоянные медицинские противопоказания, в среднем в России не более 1% [32]. Длительные противопоказания условно разделяются на общие, относящиеся ко всем вакцинным препаратам и специфические (локальные), которые зависят от конкретного иммунобиологического препарата. К общим длительным противопоказаниям относятся сильные реакции (температура выше 40°C, отек, гиперемия диаметром более 8 см) или осложнения (анафилаксия, коллапс, энцефалит, энцефалопатия, фебрильные судороги) на предыдущую дозу вакцины. Живые вакцины не вводят при наличии первичного иммунодефицитного состояния, иммуносупрессии, злокачественного новообразования, беременности. Прививку АКДС-вакциной не проводят при наличии прогрессирующего неврологического заболевания, фебрильных судорог в анамнезе. При специфических (локальных) длительных противопоказаниях возможно применение отдельных вакцинных препаратов, например, постоянные противопоказания к применению оральной полиомиелитной вакцины, АДС, АДС-М анатоксинов отсутствуют. Введение живых вакцинных препаратов (коревая и паротитная моновакцины, дивакцины и тривакцины) противопоказано для детей, имеющих тяжелые аллергические реакции на аминогликозиды, перепелиные яйца или яичный белок. Все длительные противопоказания должны быть подтверждены на заседании иммунологической комиссии лечебно-профилактического учреждения с участием соответствующего «узкого» специалиста [14, 32, 33].

Временные медицинские противопоказания включают заболевания или нарушения состояния здоровья без тяжелых органических нарушений, которые заканчиваются выздоровлением без осложнений. При нетяжелых ОРВИ и острых кишечных заболеваниях прививки проводят после нормализации температуры. При аллергических заболеваниях (экзема, дерматит, бронхиальная астма), сердечно-сосудистой патологии (врожденные пороки сердца, аритмии, ревмокардит и др.), заболеваниях почек (хронический пиелонефрит, гломерулонефрит) вакцинацию проводят в период ремиссии и компенсации. Все лица, имеющие временные противопоказания, прививаются после выздоровления по индивидуально составлен-

ному графику иммунизации, который предусматривает соответствующую подготовку к иммунизации, а также профилактический курс терапии в поствакцинальном периоде [32, 33].

Сравнительный анализ привитости здоровых детей и детей с нарушениями в состоянии здоровья показал, что дети, имеющие различные заболевания в анамнезе, вакцинированы с серьезными нарушениями сроков иммунизации. Своевременный охват первой вакцинацией против дифтерии и столбняка детей, относящихся к группе риска, в среднем в Российской Федерации составляет лишь 19%. Аналогичный показатель в группе здоровых детей составляет 44%. Прививку против кори в срок получают только 30% детей из группы риска, что в 2 раза меньше показателя в группе здоровых детей (61%) [6, 7].

С возрастом показатель привитости против дифтерии и столбняка в двух сравниваемых группах увеличивается, однако существенная разница показателей сохраняется. К году жизни законченный вакцинальный курс против дифтерии и столбняка получают 73% здоровых детей, в то время как дети из группы риска охвачены данной иммунизацией лишь в 40% [7].

Охват прививками против кори также отстает от нормативных показателей — к трем годам жизни остаются не привитыми против кори почти половина (48%) детей из группы риска возникновения поствакцинальных осложнений и 17% относительно здоровых детей, не имеющих каких-либо заболеваний в анамнезе [7].

Результаты проведенного анализа убедительно подтверждают необходимость разработки соответствующих мероприятий по совершенствованию организации прививочной работы среди детей и подростков, имеющих нарушения в состоянии здоровья. Охват данного контингента профилактическими прививками позволит существенно увеличить иммунную прослойку к прививаемым инфекциям и, тем самым, повысить показатель защищенности детской популяции в целом.

В России, как и в ряде стран Европы, накоплен большой опыт по иммунизации детей, имеющих в анамнезе различные нарушения органов и систем. В ряде стран мира в рамках Расширенной программы иммунизации (РПИ) созданы экспертные консультативные пункты по контролю за медицинскими противопоказаниями, их обоснованностью и правомерностью. Опыт работы таких консультативных центров показывает положительную тенденцию к снижению удельного веса детей, остающихся без соответствующих прививок. Прототипом таких центров в нашей стране стали иммунологические комиссии, которые организованы в лечебно-профилактических учреждениях.

Кроме того, в период эпидемического неблагополучия по дифтерии (1994–1998 гг.) были организованы кабинеты иммунопрофилактики, которые являлись организационно-методическими, консультативными, лечебно-профилактическими центрами на территории обслуживания. Наряду с этим, во многих регионах были организованы стационарные отделения для подготовки и иммунизации детей с нарушениями в состоянии здоровья. [14, 32].

Для достижения максимального охвата детей профилактическими прививками целесообразно создание отделений при стационарах для подготовки и иммунизации детей из групп риска возникновения поствакцинальных осложнений. Такие структурные подразделения позволяют осуществлять иммунизацию детей с тяжелыми нарушениями в анамнезе с помощью индивидуального подхода и

щадящей методики [14, 32]. Эффективность проведенной иммунизации такому контингенту оценивается по результатам иммунологических исследований.

В настоящее время разработан достаточно широкий перечень методических приемов и способов иммунизации детей из группы риска. Все они основаны на индивидуальном дифференцированном подходе, предусматривающем проведение иммунологического контроля за кинетикой иммунного ответа в ходе вакцинации.

Совершенно очевидна обоснованность и актуальность иммунизации контингента с нарушениями в состоянии здоровья. Использование предложенных методик и их широкое внедрение в практику каждого врача позволяет шире охватить иммунизацией детей с различной патологией в анамнезе, значительно расширить перечень показаний к введению вакцинных препаратов, при этом снизить риск возникновения побочных реакций.

В настоящее время хроническая патология должна рассматриваться как показание для прививок, которые не только защитят от соответствующей инфекции, но и уменьшат опасность обострения заболевания.

Безопасность и эффективность вакцинации людей с нарушениями здоровья доказана специалистами многих стран, в том числе и России. В ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» профессором М. П. Костиновым с сотрудниками показано, что АКДС-вакцина, АДС и АДС-М-анатоксины, а также живая полиомиелитная вакцина хорошо переносятся детьми, имеющими в анамнезе аллергические заболевания (бронхиальная астма, atopический дерматит, поллиноз), различные виды соматической патологии (пиелонефрит, гепатиты, лейкозы). У таких детей напряженность поствакцинального иммунитета не отличалась от таковой у практически здоровых лиц [10, 12, 13].

Результатами проведенных исследований убедительно показано, что лица с нарушениями состояния здоровья могут успешно прививаться против инфекционных заболеваний. Предлагаемые методики по иммунизации детей с нарушением состояния здоровья, позволяют надежно защищать данный контингент детей от инфекций, не вызывая при этом обострения имеющихся хронических заболеваний.

Многочисленные исследования отечественных исследователей по изучению безопасности и эффективности вакцинации таких детей способствовали пересмотру спектра противопоказаний к вакцинации [14].

Нарушения в состоянии здоровья многие годы входили в перечень противопоказаний от прививок. В настоящее время количество противопоказаний значительно уменьшилось, а имеющаяся хроническая патология у детей квалифицируется как фактор риска, требующий проведения активной иммунизации.

По результатам научно-практических исследований были сформулированы показания и противопоказания для вакцинации, а также перечень хронических болезней, при которых вакцинация считается допустимой и необходимой. Эти положения утверждены Методическими указаниями и являются руководящим документом при решении вопроса о противопоказаниях к прививкам [14].

По данным ФГУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций» (НИИДИ) из числа детей, поступивших в клинику с подозрением на поствакцинальное осложнение, диагноз подтвержден у 19,1%; у 69,7% детей диагноз отменен на какое-либо заболевание, не связанное с про-

ведением прививки, а у 11,2% имевшиеся симптомы расценены как обычный вакцинальный процесс [15].

Анализ поствакцинальных осложнений показал, что сочетанное введение вакцинных препаратов, одновременное или в виде комбинированного препарата, снижает частоту развития осложнений в 1,5–2 раза. Сочетанное введение АКДС-вакцины с живой полиомиелитной вакциной и сочетанное введение коревой и паротитной вакцин является своеобразным методом профилактики поствакцинальных осложнений. Данное наблюдение является дополнительным аргументом в пользу сочетанной вакцинации детей.

Таким образом, диагноз осложненного течения вакцинального процесса является результатом совокупной информации, полученной в ходе комплексного клинико-лабораторного обследования больного.

ВОЗ рекомендует разделять «неблагоприятные события» после прививки по степени взаимосвязи (причинности), которая оценивается на основании статистических критериев, наличия биологических зависимостей между антигеном вакцины и развивающейся патологией. В зависимости от имеющихся подтверждений причинно-следственной связи с проведенной вакцинацией «неблагоприятные события» классифицируют как:

- имеющие определенную причинную связь с проведенной прививкой (существуют данные, подтверждающие такую связь);
- имеющие возможную связь с прививкой (существующие данные не противоречат наличию причинной связи, но не достаточны);
- с неопределенной связью с прививкой (недостаточно свидетельств в пользу причинной связи или ее отсутствия);
- не связанные с проведенной вакцинацией (имеющиеся данные подтверждают отсутствие связи заболевания с прививкой).

Принципы иммунизации детей с нарушениями в состоянии здоровья

Тактика безопасной и эффективной иммунизации у детей с нарушением в состоянии здоровья должна предусматривать следующие принципы подхода к вакцинации:

- постоянный и систематический контроль за состоянием здоровья детей из группы риска заражения;
- дифференцированный подход к иммунизации с учетом индивидуальных особенностей организма ребенка;
- разработка комплекса лечебно-оздоровительных мероприятий до иммунизации;
- проведение коррекции иммунного статуса по результатам иммунологических исследований;
- составление индивидуальной схемы иммунизации, с учетом имеющейся в анамнезе патологии.

Указанные принципы могут быть реализованы при постоянном и систематическом контроле врача-иммунолога кабинета иммунопрофилактики совместно с участковыми врачами поликлиники. Такой подход позволяет комплексно решить вопрос проведения иммунизации.

По результатам иммунологических исследований проводится соответствующая коррекция состояния иммунной системы с последующим составлением индивидуальной схемы иммунизации [12, 16, 17].

Схема иммунизации детей данного контингента в каждом конкретном случае строится исключительно индивидуально.

При проведении иммунизации по индивидуальному графику учитывается состояние иммунной системы организма, которое может проявляться в виде 3 основных групп заболеваний: иммунодефициты, аллергические и аутоиммунные процессы.

При возникновении в организме заболеваний, связанных с нарушениями иммунитета, необходимо назначение иммуномодулирующей терапии.

Основным критерием для назначения иммуномодулятора с преимущественным эффектом на фагоцитарную систему является наличие хронического инфекционно-воспалительного процесса.

Иммуномодуляторы могут применяться в виде монотерапии и в комплексе с различными общеукрепляющими средствами. Это оправдано в следующих случаях:

- у пациентов с неполным выздоровлением после перенесенного острого инфекционного заболевания (бронхит, ларингит, трахеит и др.);
- у часто и длительно болеющих людей, перед началом осенне-зимнего сезона;
- у онкологических больных для улучшения качества жизни.

Любой иммуномодулятор помимо эффекта на соответствующий компонент иммунитета, оказывает и общее неспецифическое воздействие на всю иммунную систему в целом.

На интенсивность иммунного ответа даже у практически здоровых детей могут оказывать влияние присоединение вирусных и бактериальных инфекций. Кроме того, развитие инфекций в раннем поствакцинальном периоде (первая неделя) в еще большей степени усугубляет сниженный иммунный ответ на введение вакцинного препарата. В большей степени это наблюдается при первичном введении живых вирусных вакцин (коревая, паротитная, краснушная). Иммуно-вирусологическими обследованиями показано, что у детей, часто болеющих острыми респираторными заболеваниями, также снижен уровень секреторного иммуноглобулина А и активность лизоцима [18].

У детей часто (более 6 раз в год) и длительно болеющих респираторными инфекциями, в разгар болезни титр циркулирующих антител ниже, чем у редко болеющих. У 55% детей данной группы отмечено снижение уровня интерферона в сыворотке крови, у 76% — выявлен низкий уровень термоллабильных ингибиторов. Это характеризует слабость неспецифической противовирусной защиты у часто болеющих детей [19, 20]. Достоверное снижение уровней большинства показателей иммунитета и неспецифической защиты, включая факторы местной резистентности, позволяет диагностировать наличие вторичной иммунологической недостаточности. Симптоматический комплекс рецидивирующих инфекций присоединяется позже, в связи с чем, отмечается депрессия фитогемагглютинин-чувствительных Т-клеток и системы фагоцитоза, что ведет к повышению заболеваемости [21, 22]. Достаточно серьезные изменения в иммунном статусе отмечены у часто болеющих детей в сочетании с патологией ЛОР-органов. В данной группе детей недостаточность клеточного звена иммунитета выявлялась у 25 до 100% детей по различным показателям, дисиммуноглобулинемия — от 75 до 93,8% детей, что свидетельствует о нарушениях со стороны гуморального иммунитета. У 18,8% детей этой группы отмечается снижение абсолютного количества В-лимфоцитов [23, 24]. При сравнении клинико-иммунологических показателей детей, часто и длительно болеющих острыми респираторными заболеваниями, и такой же группы детей, страдаю-

щих ЛОР-патологией, выявлено, что изменения показателей детей 1 группы характеризуются, в основном, нарушениями факторов местной защиты и снижением функциональной активности лейкоцитов. Изменения, регистрируемые у детей 2 группы, характеризуются более глубокими нарушениями, затрагивающими клеточное и гуморальное звенья иммунитета. Такие показатели иммунитета позволяют судить о наличии очагов хронической инфекции у детей и диагностировать вторичную иммунологическую недостаточность.

Проведение вакцинации таким детям приводит к выработке специфических антител, однако их уровень ниже, чем у практически здоровых детей, а у некоторых из них защитные титры антител вовсе не выявляются.

В связи с этим возникает вопрос о целесообразности повышения резистентности организма до вакцинации или в поствакцинальном периоде. Эти мероприятия предполагают снижение частоты присоединения интеркуррентных заболеваний, а также создание условий, способствующих адекватной продукции специфических антител.

С целью коррекции иммунодефицитных состояний применяют иммуномодуляторы различного происхождения: цитокины, препараты тимуса, костного мозга, естественных и искусственных пептидов, химических и растительных иммуностимуляторов.

На отечественном рынке имеется около 30 лекарственных форм интерферона, предназначенных для коррекции иммунодефицитных состояний, а также применяемых в качестве иммуноадьювантов при вакцинации. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о возможности стимуляции поствакцинального иммунитета при сочетанном введении вакцин с различными препаратами цитокинов: реаферон ЕС, альтевир, виферон, генферон, гиаферон, кипферон, роферон-А, альфаферон и др.

Помимо препаратов интерферонового ряда в практике применяются другие виды иммуномодуляторов отечественного производства: беталейкин, ронколейкин, лейкостим, суперлимф, аффинолейкин, окталейкин, альнорин, бифнорин, граноген и др. Зарегистрированы также зарубежные рекомбинантные иммуномодуляторы: нейпоген, ленограстим, лейкомакс, ремикейд, луцентис, герцептин и др. [5, 10].

При вторичных иммунодефицитных состояниях с комбинированной иммунологической недостаточностью применяются синтетические иммуностимуляторы: тимоген, полиоксидоний, ликолипид, имунофан, гепон и др.

В качестве иммуномодулятора достаточно успешно применяется человеческий лейкоцитарный интерферон, который вводится назально за 3 дня до вакцинации и в течение 10 дней после прививки [17, 25]. Применение интерферона при вакцинации коревой вакциной способствует снижению частоты и выраженности поствакцинальных реакций, предупреждает развитие ОРВИ в вакцинальном периоде и приводит к формированию противокоревого иммунитета достаточно высокой напряженности.

Учитывая преимущества иммунизации на фоне применения интерферона, в Клиническом центре иммунопрофилактики ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» при введении вирусных вакцин (коревая, паротитная, краснушная) назначают препараты интерферонового ряда. Так, в поствакцинальном периоде детям с нарушениями в состоянии здоровья назначается виферон ректально по различным схемам в зависимости от состояния здоровья. В ходе наблюдения за детьми выявлено, что

ОРВИ в поствакцинальном периоде практически не присоединялись.

Для подготовки к вакцинации часто болеющих детей практикуется назначение тимогена интраназально в течение 5–7 дней после определения состояния гуморального иммунитета. Через месяц после такого курса проводили вакцинацию АКДС, АДС-М, АДС препаратами, полиомиелитной и противокоревой вакцинами. При этом отмечались легкие и средние температурные реакции, уровень которых не превышал уровень в группе здоровых детей. Сильные температурные реакции в поствакцинальном периоде не наблюдались. Антитела к дифтерии и столбняку у всех детей продуцировались в средних и высоких титрах через 1,5–2 месяца после завершения вакцинации, а противокоревые антитела по уровню среднего геометрического титров антител (СГТа) не отличались от таковых в группе не болеющих детей [26–28]. Такой подход к вакцинации часто болеющих детей применяется в случаях, если есть возможность отложить вакцинацию на 1–1,5 месяца. При невозможности удлинения срока вакцинации тимоген назначают одновременно с вакцинным препаратом. Вакцинация на фоне применения тимогена не вызывает развития каких-либо нежелательных реакций или увеличения частоты присоединения респираторных заболеваний.

Используя полиоксидоний в качестве иммуностимулятора, отечественными учеными Р. В. Петровым и Р. М. Хаитовым, разработаны и внедрены в практику полимерсубъединичные вакцины [30, 31]. Включение иммуностимуляторов в состав вакцинных препаратов приводит к усилению продукции специфических антител, особенно у лиц с низким уровнем иммунного ответа на определенные антигены.

Внедрение в практику здравоохранения иммуномодуляторов показало их высокую эффективность, главным образом, при вторичных иммунодефицитных состояниях. Изучение динамики изменения иммунологических показателей в ходе вакцинального процесса у длительно и часто болеющих детей на фоне применения иммунокорректоров в сравнении с детьми, привитыми без приема лекарственных средств, указывает на восстановление показателей иммунного статуса, что в последующем может отражаться не только на уровне продукции специфических антител, но и на частоте присоединения ОРВИ [27, 29].

Помимо иммуномодулирующих препаратов в период вакцинации широко применяются адаптогены как биостимуляторы иммунной системы (элеутерококк, женьшень, китайский лимонник, иммунал, кальция пантотенат, ретинола ацетат, аскорбиновая кислота, комплексы витаминных препаратов и минералов). По мнению исследователей, применение таких препаратов для профилактики респираторных заболеваний является эффективным, особенно у детей с онкопатологией [16, 25].

Заключение

Актуальность иммунопрофилактики лиц с нарушениями в состоянии здоровья очевидна. Организация и проведение иммунопрофилактики данной категории все еще не совершенна и требует глубокого научного изучения и практического внедрения. Разработка и применение новых иммунобиологических препаратов требует постоянного слежения за процессом иммунизации, выявления негативных воздействий на организм человека. Перечень вакцинных препаратов для профилактики инфекционных заболеваний, зарегистрированных и разрешенных для применения

на территории РФ, достаточно широк. Вместе с тем, до настоящего времени в мире не существует идеальных вакцинных препаратов, а потому риск возникновения побочных реакций на их введение остается. В этой связи поиск путей совершенствования организационных и методических подходов иммунопрофилактики, особенно лиц, имеющих какую-либо патологию, является серьезной проблемой здравоохранения.

Перспективы дальнейшего развития иммунопрофилактики в данном направлении зависят как от эффективности применяемых иммунобиологических препаратов, так и от научно-методических подходов к организации прививочной работы на местах.

Основные пути совершенствования эффективности иммунобиологических препаратов сводятся к следующему:

- разработка комбинированных вакцинных комплексов нового поколения, содержащих несколько вакцинных штаммов возбудителей, что позволяет предупреждать одновременно несколько инфекционных заболеваний;
- расширение числа инфекций, контролируемых с помощью вакцинных препаратов;
- создание новых вакцинных препаратов с минимальным риском развития поствакцинальных осложнений, что позволит увеличить охват профилактическими прививками контингента группы риска;
- применение вакцинных комплексов с включением в их состав адъювантов, усиливающих иммунный ответ при введении иммунобиологических препаратов;
- разработка и внедрение новых препаратов для коррекции иммунодефицитных состояний и нормальной флоры организма.

С целью совершенствования организации иммунопрофилактики лиц с нарушениями в состоянии здоровья необходимо руководствоваться следующими основными методическими подходами:

- внедрение в практику здравоохранения методов иммунодиагностики с целью выявления иммунодефицитных состояний и прогнозирования иммунного ответа на введение вакцинного штамма;
- проведение коррекции иммунного статуса на основании результатов иммунологических исследований;
- разработка и применение наиболее адекватных схем иммунизации, основанных на индивидуальных особенностях организма и имеющейся патологии в анамнезе с включением вакцинных комплексов нового поколения;
- осуществление динамического наблюдения за лицами из групп риска, их своевременная подготовка к иммунизации и ее проведение;
- сведение до минимума перечня противопоказаний к применению вакцинных препаратов с целью увеличения охвата иммунизацией лиц, имеющих длительные медицинские отводы от прививок.

Руководствуясь вышеизложенными методическими подходами, представляется объективная возможность охватить иммунизацией лиц, имеющих в анамнезе различные заболевания органов и систем, при этом свести к минимуму риск возникновения побочных реакций в поствакцинальный период. Необходимо отметить, что вероятность заражения лиц, не привитых против таких тяжелых заболеваний, как дифтерия, столбняк, полиомиелит и других, гораздо выше, чем вероятность развития тяжелой побочной реакции после иммунизации.

Таким образом, с помощью методических подходов и организационно-тактических принципов удастся привлечь к иммунизации лиц с нарушениями в состоянии здо-

ровья, тем самым повысить уровень невосприимчивости населения к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики.

Литература:

1. Вакцины и иммунизация: современное положение в мире. Женева: ВОЗ, Детский фонд ООН; 1998.
2. Иммунизация и борьба с инфекционными заболеваниями. Копенгаген: ВОЗ, Европейское региональное бюро; 1994.
3. Vaccines, immunization and biological: 2002–2005 Strategy. Geneva: WHO; 2003.
4. Онищенко Г.Г. Доклад на X съезде Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Итоги и перспективы обеспечения эпидемиологического благополучия населения РФ». Москва, 12–13 апреля 2012 г.
5. Медуницын НВ. Вакцинология. М.: Триада-Х; 2010.
6. Онищенко Г.Г. Иммунопрофилактика — достижения и задачи по дальнейшему совершенствованию. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии 2006; (3): 58–62.
7. Никитюк НФ. Совершенствование основ управления иммунопрофилактикой в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, управляемыми средствами специфической профилактики: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 1998.
8. Таточенко ВК, Озерцовский НА, Федоров АМ. Иммунопрофилактика–2011 (справочник). М.; 2011.
9. Федеральный закон № 157-ФЗ от 17 сентября 1998 г. «Об иммунопрофилактике инфекционных болезней».
10. Костинов МП, ред. Вакцинация детей с нарушенным состоянием здоровья. Практическое руководство для врачей. М.: Медицина для всех; 2002.
11. Семенов БФ, Баранов АА, ред. Вакцинопрофилактика при нарушении здоровья. М.; 2001.
12. Костинов МП. Иммунокоррекция в педиатрии (практическое руководство для врачей). М.; 2001.
13. Костинов МП, Гурвич ЭБ. Вакцины нового поколения в профилактике инфекционных заболеваний. М.; Медицина для всех; 2002.
14. Методические указания 3.3.1.1095–02 «Медицинские противопоказания к проведению профилактических прививок препаратами Национального календаря прививок».
15. Иванова ВВ, ред. Поствакцинальные осложнения. Пособие для практического врача. М.; 2004.
16. Вербная ВА. Клинико-иммунологические показатели у детей с острым лейкозом и нейтропенией при иммунизации АДС (АД-М) анатоксином: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1999.
17. Каральский СА. Клинико-иммунологическая оценка поствакцинальных реакций у детей при проведении противокоревых прививок: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов; 1986.
18. Долгих ВТ. Основы иммунопатологии. М.: Медкнига; 2000.
19. Хаитов РМ, Игнатова ГА, Сидорович ИГ. Иммунология. М.: Медицина; 2000.
20. Харьянова МЕ. Влияние полиоксидония и миелопида на формирование поствакцинального иммунитета у часто и длительно болеющих детей: дис. ... канд. мед. наук. М.; 2000.
21. Черток ТЯ, Нибш Г, ред. Состояние здоровья и диспансеризация детей раннего возраста. М.: Медицина; 1987.
22. Смирнов ВС, Фрейдлин ИС. Иммунодефицитные состояния. СПб.: Фолиант; 2000.
23. Черток ЕД. Диспансеризация часто и длительно болеющих детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Воронеж; 1987.
24. Учайкин ВФ, Шамшева ОВ. Руководство по клинической вакцинологии. М.: Гэотар-Медиа; 2006.
25. Карпочева СВ. Вакцинация против дифтерии и столбняка детей, имеющих в анамнезе солидные опухоли: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1998.
26. Пономарева ЕИ, Костинов МП, Сверановская ВВ. Применение тимогена при вакцинации часто болеющих детей. В кн.: Тезисы доклада 4-й Российской национальной конференции «Человек и лекарство». М.; 1997. С. 229–30.

27. Смирнов ВС, Фрейдлин ИС. Иммунодефицитные состояния. СПб.: Фолиант; 2000.
28. Харьянова МЕ. Влияние полиоксидония и миелопида на формирование поствакцинального иммунитета у часто и длительно болеющих детей: дис. ... канд. мед. наук. М.; 2000.
29. Черток ЕД. Диспансеризация часто и длительно болеющих детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Воронеж; 1987. С. 15–6.
30. Петров РВ, Хаитов РМ. Искусственные антигены и вакцины. М.; 1988.
31. Петров РВ, Хаитов РМ. Новая отечественная тривалентная конъюгированная полимерсубъединичная вакцина «Гриппол». Вакцинация 1999; (5): 6–7.
32. Медуницын НВ, Покровский ВИ. Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных болезней. Учебное пособие. М.; 2005.
33. Никитюк НФ, Юревич МА, Зотова ЛМ. Организация иммунопрофилактики лиц групп риска возникновения поствакцинальных осложнений. Руководство для врачей. Самара. 2008.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.

Никитюк Надежда Федоровна. Главный эксперт Управления экспертизы противобактериальных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 443099, Самара, ул. Чапаевская, 89.

Глушченко Владимир Алексеевич. Заведующий курсом эпидемиологии, канд. мед. наук.

Федеральное государственное казенное учреждение «1026 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора» Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 443056, Самара, ул. Подшипниковая, 9.

Панин И. В. Заведующий отделением государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

Адрес для переписки: Никитюк Надежда Федоровна; nikityuk_n@mail.ru

Scientific and methodical approaches to organizing and conducting immunization in patients with health disorders

N. F. Nikityuk¹, V. A. Glushchenko², I. V. Panin³

¹ Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Samara State Medical University, Samara, Russia

³ State-owned Federal State Institution «1026 Sanitary and Epidemiological Supervision Center of the Military Region» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Samara, Russia

Vaccination is one of the most effective ways to control the epidemic process in a number of infectious diseases. Many years of experience in the use of vaccines proved the undeniable importance of preventive vaccination in the fight against serious diseases such as smallpox, polio, diphtheria, tetanus, measles, pertussis, rubella, mumps and others. The incidence of these infections is dependent on vaccination coverage, which should not be lower than 95%. This rate is hard to be achieved and it is a serious public health problem, since every year we notice a growing number of medical exemption to the immunization in children with various health disorders. Immunization in children of the mentioned group is a significant reserve for increasing the rate of vaccinated population. The article outlines basic scientific and methodological approaches to immunization in patients with health disorders. The authors summarized the experience of domestic researchers and suggested the common tactical methods to engage the mentioned cohort of children for immunization, based on modern scientific and practical achievements in child immunization of high-risk groups. These scientific and methodical approaches can improve the rate of the vaccinated population and therefore protect against infectious diseases, managed by specific prophylaxis.

Key words: vaccination; immunization; immunological control; risk groups; vaccine preparations; vaccination coverage.

For citation: Nikityuk NF, Glushchenko VA, Panin IV. Scientific and methodical approaches to organizing and conducting immunization in patients with health disorders. BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment 2016; 16 (1): 35–42.

References

1. Vaccines and immunization: the present situation in the world. Geneva: WHO, the UN Children's Fund; 1998 (in Russian).
2. Immunization and control of communicable diseases. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 1994 (in Russian).
3. Vaccines, immunization and biological: 2002–2005 Strategy. Geneva: WHO; 2003.
4. Onishchenko GG. Report to the Tenth Congress of the All-Russian scientific and practical society of epidemiologists, microbiologists and parasitologists «Results and prospects for epidemiological being of the population of the Russian Federation». Moscow, 12–13 April 2012 (in Russian).
5. Medunitsyn NV. Vaccinology. M.: Triada-X; 2010 (in Russian).
6. Onishchenko GG. Immunization — achievements and challenges for further improvements. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii 2006; (3): 58–62 (in Russian).
7. Nikityuk NF. Improving governance framework immunoprophylaxis in the surveillance system for vaccine-preventable diseases. Dr. Med. Sci [dissertation]. Moscow; 1998 (in Russian).
8. Tatochenko VK, Ozeretskovsky NA, Fedorov AM. Immunization 2011 (reference). Moscow; 2011 (in Russian).
9. Federal Law № 157-FZ, 17.09.1998 «On immunoprophylaxis of infectious diseases» (in Russian).

10. Kostinov MP, ed. *Vaccination of children with impaired health. A practical guide for doctors*. Moscow: Meditsina dlya vseh; 2002 (in Russian).
11. Semenov BF, Baranov AA, eds. *Vaccination in violation of health*. Moscow; 2001 (in Russian).
12. Kostinov MP. *Immunotherapy in Pediatrics (a practical guide for doctors)*. Moscow; 2001 (in Russian).
13. Kostinov MP, Gurvich EB. *New generation vaccines in the prevention of infectious diseases*. Moscow; Meditsina dlya vseh; 2002 (in Russian).
14. *Guidelines 3.3.1.1095–02 «Medical contraindications to prophylactic vaccinations by drugs of national immunization schedule»* (in Russian).
15. Ivanova VV, ed. *Post-vaccination complications. Handbook for practitioners*. Moscow; 2004 (in Russian).
16. Verbyayak VA. *Clinical and immunological parameters in children with acute leukemia and neutropenia during immunization ADS (AP-M) toxoid*. Cand. Med. Sci [thesis]. Moscow; 1999 (in Russian).
17. Karalskiy SA. *Clinical and immunological evaluation of vaccine reactions in children during the measles vaccination*. Cand. Med. Sci [thesis]. Saratov; 1986 (in Russian).
18. Dolgih VT. *Fundamentals of immunopathology*. Moscow: Medkniga; 2000 (in Russian).
19. Haitov RM, Ignatieva GA, Sidorovich IG. *Immunology*. Moscow: Meditsina; 2000 (in Russian).
20. Hariyanova ME. *Influence of poliooxidonium and myelopidum on the formation of post-vaccination immunity in frequently and chronically ill children*. Cand. Med. Sci [thesis]. Moscow; 2000 (in Russian).
21. Chertok TYa, Nibsh G, eds. *Health status and medical examination of young children*. Moscow: Meditsina; 1987 (in Russian).
22. Smirnov VS, Freydlin IS. *Immunodeficiency status*. St. Petersburg: Foliant; 2000 (in Russian).
23. Chertok ED. *Clinical examination of frequently and chronically ill children*. Cand. Med. Sci [thesis]. Voronezh; 1987 (in Russian).
24. Uchaykin VF, Shamsheva OB. *Guidelines for Clinical Vaccinology*. Moscow: GEOTAR Media; 2006 (in Russian).
25. Karpocheva SV. *Vaccination against diphtheria and tetanus in children with a history of solid tumors*. Cand. Med. Sci [thesis]. Moscow; 1998.
26. Ponomareva EI, Kostinov MP, Sveranovskaya VV. *Application of timogen in vaccination of sickly children*. In: *Proceedings of the 4th report of the Russian national conference «Man and medicine»*. Moscow; 1997. P. 229–30.
27. Smirnov VS, Freydlin IS. *Immunodeficiency status*. St. Petersburg: Foliant; 2000 (in Russian).
28. Hariyanova ME. *Influence of poliooxidonium and myelopidum on the formation of post-vaccination immunity in frequently and chronically ill children*. Cand. Med. Sci [thesis]. Moscow; 2000 (in Russian).
29. Chertok ED. *Clinical examination of frequently and chronically ill children*. Cand. Med. Sci [thesis]. Voronezh; 1987. P. 15–6 (in Russian).
30. Petrov RV, Haitov RM. *Artificial antigens and vaccines*. Moscow; 1988 (in Russian).
31. Petrov RV, Haitov RM. *New domestic trivalent subunit vaccine conjugated polymer «Grippol»*. *Vaktsinatsiya* 1999; (5): 6–7 (in Russian).
32. Medunitsyn NV, Pokrovsky VI. *Fundamentals of immunization and infectious diseases immunotherapy*. Moscow, 2005.
33. Nikityuk NF, Yurevich MA, Zotova L. M. *Organization of the immunization groups of persons risk of post-vaccination complications*. Samara. 2008.

Authors

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre on Expert Evaluation of Medical Application Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8–2 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Nikityuk NF. Chief expert of Office of expertise of antibacterial medical immunobiological preparations of Center of expertise and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

State Educational Institution of Higher Professional Education «Samara State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 89 Chapaevskaya street, Samara, 443099, Russian Federation.

Glushchenko VA. Head of epidemiology course. Candidate of Medical Sciences.

The Federal State Governmental Institution «1026 Center of State Sanitary and Epidemiological Surveillance» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 9 Podshipnikovaya street, Samara, 443056, Russian Federation.

Panin IV. Head of the Department for State Sanitary and Epidemiological Supervision.

Экспериментальное изучение эффективности удаления вирусов гепатитов В, С и парвовируса В19 при фракционировании плазмы крови этиловым спиртом

Н. В. Зубкова, М. М. Кузнецова, С. В. Зубов, Е. В. Филатова, М. Ю. Опалева

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Поступила 19.11.2016. Принята к публикации 17.02.2016.

Цель исследования заключалась в оценке эффективности удаления нуклеиновых кислот (НК) вирусов гепатитов В (ВГВ), С (ВГС) и парвовируса В19 (В19V) из фракций плазмы, полученных методом спиртового разделения. Исследования выполнены в модельном эксперименте путем фракционирования в лабораторных условиях нормального пула донорской плазмы, контаминированного вирусосодержащими образцами. Установлено, что многостадийный процесс выделения фракции II, предназначенной для получения иммуноглобулина G, обеспечивал элиминацию НК ВГВ и ВГС до неопределяемого методом ПЦР уровня, при этом суммарный фактор редукции по сравнению с исходной плазмой составил для ДНК ВГВ $>5,35 \lg$, РНК ВГС $>4,84 \lg$. Фактор редукции ДНК В19V был на уровне $4,56 \lg$ (CI 4,49–4,63). При получении фракции V (для альбумина) фактор редукции исследуемых вирусов был $>3,0 \lg$, что в совокупности с дополнительными стадиями очистки обеспечивает надежный уровень безопасности. При выделении фракции I эффективность элиминации ДНК ВГВ и ДНК В19V была менее 2, РНК ВГС – менее 3 порядков, что недостаточно, чтобы признать стадию надежной. Экспериментально подтверждено, что при высоком риске контаминации производственных пулов парвовирусом В19 дополнительные меры безопасности необходимы, включая обязательное исследование плазмы на ДНК В19V. В целом, при разработке полного цикла производства препаратов из плазмы крови доноров базовый процесс спиртового фракционирования необходимо дополнять валидированными стадиями инактивации и элиминации вирусов с учетом остаточного риска контаминации сырья патогенными агентами.

Ключевые слова: препараты из плазмы крови; фракции плазмы; вирусная безопасность; спиртовое фракционирование; инактивация вирусов; нуклеиновые кислоты; концентрация вирусов (C); вирусная нагрузка (VL); фактор редукции (RF).

Библиографическое описание: Зубкова НВ, Кузнецова ММ, Зубов СВ, Филатова ЕВ, Опалева МЮ. Экспериментальное изучение эффективности удаления вирусов гепатитов В, С и парвовируса В19 при фракционировании плазмы крови этиловым спиртом. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; 16 (1): 43–48.

Препараты из плазмы крови человека относятся к классу важнейших лекарственных средств, используемых часто как единственный способ профилактики и терапии опасных для жизни заболеваний, обусловленных травмами, врожденными патологиями, иммунологическими нарушениями и инфекциями. Многолетний опыт применения этих препаратов в клинической практике свидетельствует о высоком уровне их эффективности и безопасности. Однако риск передачи инфекций, особенно вирусных, является общей проблемой для всех биологических продуктов, изготовленных из сырья человеческого происхождения [1–3].

Вирусное загрязнение может возникнуть из-за нарушений в производственном процессе при использовании неэффективных технологий или несоблюдения правил надлежащей производственной практики (GMP). Вероятность контаминации сырья существенно увеличивается при формировании больших пулов плазмы, являющихся необходимым условием производства [3].

В Российской Федерации, как и в большинстве стран мира, с целью предупреждения передачи инфекций при гемотранфузиях разработаны и действуют нормативные документы, регулирующие работу в области заготовки, контроля и переработки донорской плазмы. При производстве препаратов крови необходимо гарантировать не только сохранение структуры и функции белков крови, но также исключать контаминацию чужеродными агентами и

обеспечивать надежный уровень редукции патогенных агентов [4].

Метод фракционирования донорской плазмы этиловым спиртом считается основным при получении препаратов из плазмы крови и в сочетании с современными технологическими приемами очистки применяется большинством производителей [1–3].

Целью настоящей работы было в модельном эксперименте оценить эффективность удаления и распределения нуклеиновых кислот (НК) вирусов гепатита В (ВГВ), гепатита С (ВГС) и парвовируса В19 (В19V) в основных фракциях плазмы и определить вклад процесса спиртового фракционирования в суммарный уровень редукции патогенов и безопасность готовых лекарственных форм.

Материалы и методы

Исследования были выполнены на базе отделения НВ-диагностики цеха диагностических препаратов Нижегородского филиала ФГУП НПО «Микроген» (лицензия № 77.99.03.001.Л.000271.02.05).

Материалы. Объектом исследования была плазма для фракционирования, представляющая собой пул плазмы крови здоровых доноров, проверенных на отсутствие маркеров ВГВ, ВГС, В19V. Для контаминации использовали стандартные образцы (СО) ДНК ВГВ, ДНК парвовируса В19 и отраслевой стандартный образец (ОСО) РНК ВГС

42-28-366 (1)-11 П, представляющие собой лиофилизированную вирусосодержащую плазму, аттестованную по содержанию НК вирусов относительно стандартов B03 (WHO International Standard, 2nd Hepatitis B Virus (HBV) DNA International Standard, NIBSC code: 97/750; WHO International Standard, 3rd Hepatitis C Virus (HCV) RNA International Standard, NIBSC code: 60/100; 1st WHO International Reference Panel for Parvovirus B19 genotypes for NAT based assays», NIBSC code: 09/110).

Изготовлено 10 модельных пулов объемом 250 мл каждый путем объединения равных объемов плазмы крови здоровых доноров ($n = 999$), контаминированных реконструированными СО и СОС в объемном соотношении 1/5–1/20.

Методы. Модельное фракционирование осуществляли по модифицированному методу Кона–Онклея в лабораторных условиях с использованием центрифуги с охлаждением Optima L-90K («Beckman Coulter», США). В контрольных точках модельного процесса измеряли объем полученных фракций и определяли концентрацию НК вирусов, используемых для контаминации.

На первом этапе выделяли фракцию I (осадок А8), предназначенную для получения фибриногена, при концентрации этилового спирта 8% и pH раствора 7,0–7,2. Затем при концентрации этилового спирта 26% и pH 7,0–7,2 выделяли фракцию II+III (осадок А) и фракцию V (центрифугат А). Фракция V была предназначена для дальнейшего получения альбумина.

Осадок А переосаждали в тех же условиях и получали осадок А1. На следующем этапе при концентрации этилового спирта 17% и pH 5,3–5,4 получали фракцию III (осадок Б), содержащую иммуноглобулины классов G, A, M, β -глобулины.

После выделения осадка Б центрифугат доводили до pH 6,8 и осаждали 26% этиловым спиртом, получая осадок В (фракцию II/очищенный IgG). Схематично процесс спиртового фракционирования показан на рис. 1. Параметры процесса для лабораторного и производственного масштабов представлены в таблице 1.

Концентрацию ДНК ВГВ, РНК ВГС и ДНК В19В в исследуемых пробах определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме

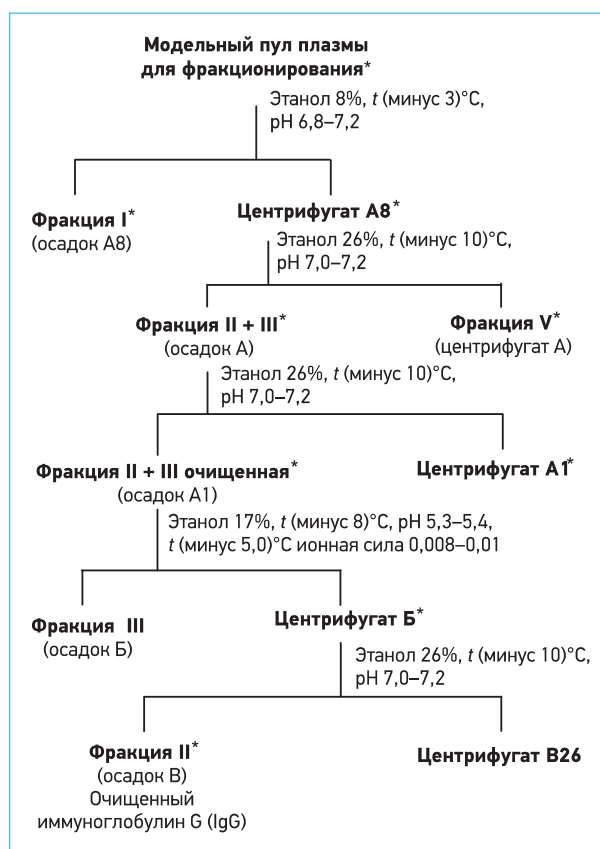


Рис. 1. Схема спиртового фракционирования донорской плазмы. Звездочкой (*) отмечены точки отбора проб.

реального времени с использованием коммерческих наборов производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» (предел обнаружения РНК ВГС 100 МЕ/мл, ДНК ВГВ 50 МЕ/мл), «АмплиСенс HCV-Монитор-FL» (линейный диапазон измерения 300–1000000 МЕ/мл), «АмплиСенс HBV-Монитор-FL» (линейный диапазон измерения 150–1000000 МЕ/мл), «АмплиСенс Parvovirus B19-FL» (предел обнаружения 360 МЕ/мл; линейный диапазон измерения 720–9000000 МЕ/мл).

Таблица 1. Критические параметры процесса спиртового фракционирования для целевых фракций плазмы

№ п/п	Наименование фракции		Параметр процесса			
			pH	температура, °C	условия разделения	объем (масса) $M + m$
1	Осадок А8	П	6,5–8,0	минус (2,0–3,0)	Центрифугирование (30–70 л/ч) 15000 об/мин	3,03 кг
		М	6,8–7,2	минус (3,0–5,0)	Центрифугирование 6000 об/мин 30 мин	2,26 г
2	Осадок А / Центрифугат А	П	7,0–7,2	минус (2,0–10,0)	Выдерживание 1–5 ч Центрифугирование (30–70 л/ч) 15000 об/мин	13,5 кг / 465 л
		М	7,0–7,2	минус 10,0	Выдерживание 1 ч Центрифугирование 6000 об/мин 30 мин	11,85 г / 471,5 мл
3	Осадок А1	П	7,0–7,2	минус (9,5–10,5)	Выдерживание 1–2 ч Центрифугирование (30–70 л/ч) 15000 об/мин	12,0 кг
		М	7,0–7,2	минус 10,0	Выдерживание 0,5–1,0 ч Центрифугирование 6000 об/мин 30 мин	11,03 г
4	Осадок В (IgG)	П	6,6–6,8	минус (9,5–10,5)	Центрифугирование (18–25 л/ч) при 15000–25000 об/мин	3,7 кг
		М	6,6–6,7	минус 10,0	Центрифугирование 6000 об/мин 30 мин	3,94 г

Примечание. П — производственный процесс; М — модельный процесс.

Таблица 2. Характеристика вирусов для модельных опытов [5, 9, 10]

Вирус	Семейство	Геном	Оболочка	Размер, нм	Распространенность у доноров, %
Вирус гепатита В	Hepadnaviridae	dsДНК	Есть	40–45	0,15–1,16
Вирус гепатита С	Flaviviridae	ssРНК	Есть	40–50	0,33–2,45
Парвовирус В19	Parvoviridae	ssДНК	Нет	18–26	0,88–1,3

Вирусную нагрузку (VL_{HK}) определяли как произведение концентрации НК (С) на объем (массу) исследуемой фракции:

$$VL_{HK} = V(m) \cdot C,$$

где VL_{HK} — уровень вирусной нагрузки, выраженный в МЕ; $V(m)$ — объем (мл) или масса (г) материала, исходного или полученного на стадиях модельного фракционирования; C — концентрация НК в исследуемом материале (МЕ/мл (г)) или аналитическая чувствительность тест-системы, в случае получения отрицательного результата тестирования.

Уровень (фактор) редукции (RF) оценивали по динамике изменения вирусной нагрузки (VL_{HK}) в целевых фракциях по отношению к исходному пулу. Для удобства статистической обработки результаты выражали в логарифмическом масштабе и рассчитывали по формуле [2]:

$$RF = \lg VL_{HK}(1) - \lg VL_{HK}(n),$$

где RF — фактор редукции; $VL_{HK}(1)$ — уровень вирусной нагрузки НК в исходном материале; $VL_{HK}(n)$ — уровень вирусной нагрузки НК в материале, полученном на исследуемой стадии.

Статистическую обработку данных проводили с применением программного обеспечения Microsoft Excel. Анализ данных по выборке проводили с помощью среднего значения при доверительном интервале (confidence interval, CI) 95%.

Результаты и обсуждение

В основе методологии настоящего исследования лежит добавление в пул плазмы здоровых доноров вирусосодержащего материала и оценка уровня редукции на каждой стадии при воспроизведении технологии в лабораторном масштабе.

Оптимально для контаминации использовать модельные вирусы, рекомендованные ВОЗ, и методы детекции, позволяющие оценивать инфекционность в опытах *in vitro* на культуре клеток или *in vivo* на лабораторных животных [2, 5, 6]. Однако вирусологические исследования являются трудоемкими и дорогостоящими. Учитывая механизм действия спиртового фракционирования, нам представлялось целесообразным применить для этой цели доступный метод полимеразной цепной реакции, позволяющий контролировать эффективность элиминации нуклеиновых кислот вирусов [5, 7].

Выбор вирусов для выполнения исследований был сделан, исходя из риска остаточного загрязнения производственных пулов, который для ВГВ и ВГС оцениваются как относительно высокий, а для В19В как очень высокий. Введение обязательного тестирования донорской плазмы на маркеры вирусов гепатитов В и С методом ПЦР позволило существенно снизить вероятность контаминации сырья данными патогенами, при этом возможный уровень

вирусной нагрузки в производственных пулах не может превышать 10^1 – 10^2 МЕ/мл [3]. В то же время отсутствие скрининга донаций на ДНК В19В приводит к тому, что вероятность загрязнения производственных пулов парвовирусом В19 достигает 60%, а концентрация НК в отдельных пулах может достигать 10^6 – 10^8 МЕ/мл [8].

Характеристика и свойства вирусов, используемых для модельных экспериментов, указаны в таблице 2.

Результаты распределения нуклеиновых кислот во фракциях плазмы, полученных на разных этапах спиртового фракционирования, представлены в таблице 3. В отдельных фракциях выявлено повышение концентрации вирусного генома в абсолютном значении. Однако эти данные не позволяют объективно судить о процессе, так как при фракционировании плазмы крови происходит изменение объема фракций за счет разбавления или концентрирования исходного материала. Поэтому результаты оценивали по уровню редукции (RF) с учетом суммарной вирусной нагрузки в исследуемых фракциях (VL_{HK}) (рис. 2).

Как видно из рисунка, при получении фракции I (осадка А8) уровень редукции, выраженный в десятичных логарифмах ($\lg$), для вирусов с липидной оболочкой (ВГВ и ВГС) составил 1,88 (CI 1,66–2,10) и 2,79 (CI 2,72–2,86) соответственно, а для парвовируса В19 (представителя вирусов без липидной оболочки) — 1,31 (CI 1,26–1,36).

На стадии получения центрифугата А, предназначенного для производства альбумина, редуцирующий фактор составил 3,07 $\lg$ для ВГВ (CI 3,00–3,07), 3,09 $\lg$ для ВГС (CI 3,04–3,14), 3,22 $\lg$ (CI 3,14–3,30) для В19В.

Наиболее эффективное удаление вирусов наблюдалось при выделении осадка В, полученного путем многостадийного переосаждения осадка А. Редуцирующий фактор для ДНК ВГВ составил в этом случае более 5,35 $\lg$, для РНК ВГС более 4,84 $\lg$, для ДНК В19 В 4,56 $\lg$ (CI 4,49–4,63). Следует отметить, что вирусы удалялись главным образом на стадии получения осадка В из осадка А1, в то время как

Таблица 3. Средние значения концентрации нуклеиновых кислот ВГВ, ВГС, В19В в модельных пулах и фракциях плазмы, полученных при фракционировании этиловым спиртом

Наименование фракции	Среднее значение концентрации (С) НК вирусов, МЕ/мл (г)		
	ВГВ	ВГС	В19В
Пул плазмы	$(1,81 \pm 0,33) \cdot 10^5$	$(1,09 \pm 0,11) \cdot 10^5$	$(6,45 \pm 0,70) \cdot 10^6$
Осадок А8	$(2,76 \pm 0,92) \cdot 10^5$	$(1,97 \pm 0,16) \cdot 10^4$	$(3,50 \pm 0,27) \cdot 10^7$
Центрифугат А8	$(6,72 \pm 1,69) \cdot 10^4$	$(4,01 \pm 0,84) \cdot 10^3$	$(2,17 \pm 0,35) \cdot 10^6$
Центрифугат А	$(8,22 \pm 1,48) \cdot 10^1$	$(4,73 \pm 0,18) \cdot 10^1$	$(2,07 \pm 0,18) \cdot 10^3$
Осадок А	$(4,68 \pm 1,17) \cdot 10^5$	$(4,49 \pm 1,36) \cdot 10^5$	$(1,93 \pm 0,29) \cdot 10^7$
Осадок А1	$(2,88 \pm 1,22) \cdot 10^5$	$(4,00 \pm 1,03) \cdot 10^5$	$(8,59 \pm 0,60) \cdot 10^6$
Центрифугат Б	$5,00 \cdot 10^1$	$1,00 \cdot 10^2$	$(4,71 \pm 0,34) \cdot 10^2$
Осадок В/IgG	$5,00 \cdot 10^1$	$1,00 \cdot 10^2$	$(1,13 \pm 0,09) \cdot 10^4$

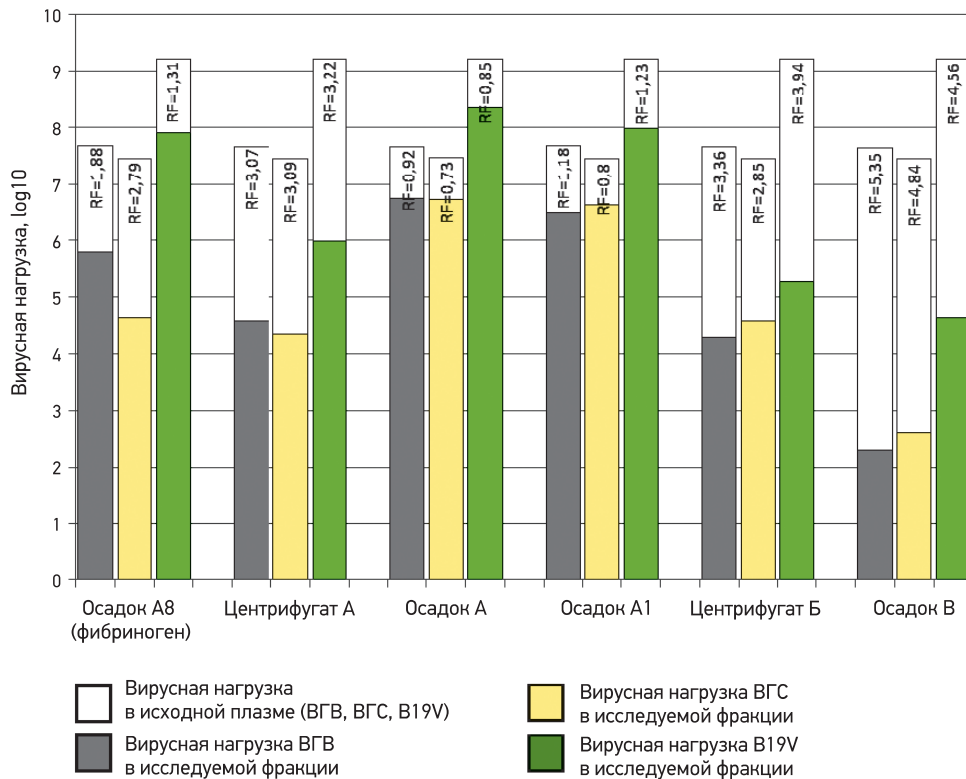


Рис. 2. Распределение НК вирусов гепатитов В, С, парвовируса В19 в основных фракциях плазмы при спиртовом фракционировании.

при получении осадков А и А1 не было выявлено значимого изменения вирусной нагрузки.

Таким образом, выполненные исследования позволили установить уровни редукции основных гемотрансмиссивных вирусов для целевых фракций плазмы и определить вклад соответствующих стадий в суммарный уровень безопасности препаратов, полученных из них.

Наиболее эффективным процесс спиртового фракционирования оказался для фракции II (осадка В), предназначенной для получения иммуноглобулина G. Достигнуто снижение концентрации НК более чем 10^4 – 10^5 раз как в отношении вирусов с липидной оболочкой, так и без нее, что в соответствии с критериями ВОЗ позволило считать стадию эффективной [5]. Более того, НК ВГВ и ВГС были удалены до неопределяемого методом ПЦР уровня, что позволило нам сделать заключение, что на стадии спиртового фракционирования обеспечивается надежное удаление ДНК ВГВ и РНК ВГС (с учетом имеющегося риска). Однако ситуация с парвовирусом В19 представляется неконтролируемой, поэтому уровень редукции В19В может быть недостаточным. По этой причине в Европейской фармакопее для производственных пулов плазмы для фракционирования установлен допустимый лимит содержания ДНК В19В, который не должен превышать 10^4 МЕ/мл [11].

Для фракции V установленный уровень редукции был немного ниже, рекомендованного ВОЗ (4 lg), однако роль спиртового фракционирования в безопасности альбумина, в целом, признана значительной. С учетом дополнительной очистки и пастеризации раствора с каприлатом натрия безопасность альбумина является доказанной, в

том числе опытом многолетнего клинического применения.

В отношении фракции I (осадка А8) процесс спиртового фракционирования признан был недостаточно эффективным. Уровень редукции исследуемых вирусов на этой стадии составил менее трех порядков, поэтому для использования этой фракции в производстве необходимы дополнительные меры безопасности.

В целом при разработке полного цикла производства препаратов из плазмы крови проблема безопасности должна рассматриваться как первоочередная задача. Необходимо учитывать все факторы риска, дополняя процесс валидированными стадиями инактивации и элиминации вирусов, а при необходимости дополнительными методами контроля сырья, исключая возможность формирования производственных пулов с высокой вирусной нагрузкой. В связи с этим, для гарантии безопасности компании «Микроген» при производстве препаратов крови, кроме спиртового фракционирования, применяет также дополнительные технологические приемы очистки и специальные методы инактивации вирусов, включая инкубацию при низком значении pH, сольвент-детергентную (СД) обработку и противовирусную фильтрацию, подтверждая каждую технологическую стадию в модельных опытах.

Выводы

1. В модельном эксперименте изучено распределение нуклеиновых кислот ВГВ, ВГС и В19В в основных фракциях плазмы, полученных при спиртовом фракционировании. Для фракций V и II, используемых в дальнейшем для производства альбумина и иммуноглобулина G, уровень

(фактор) редукции нуклеиновых кислот исследуемых вирусов составил 3–5 lg, что с учетом риска и в сочетании с дополнительными стадиями очистки и инактивации обеспечивает надежный уровень безопасности препаратов.

2. Полученные экспериментальные данные позволили косвенно оценить вклад процесса спиртового фракционирования в безопасность готовых препаратов из плазмы крови в отношении вирусов с различными свойствами, включая вирусы с РНК- и ДНК-геномом, а также с липидной оболочкой и без нее.

3. Для снижения остаточного риска вирусной трансмиссии базовый процесс спиртового фракционирования при производстве препаратов из плазмы крови необходимо дополнять специальными методами инактивации и элиминации вирусов, например, СД-обработкой, инкубацией при низком значении pH, тепловой обработкой, противовирусной фильтрацией, обработкой нуклеофильными агентами. Выбор методов инактивации в технологическом процессе должен осуществляться на основе анализа рисков и свойств продукта.

4. В отношении парвовируса В19 рекомендуется введение обязательного тестирования донорской плазмы, с целью исключения из процесса донаций с высокой концентрацией ДНК В19V.

Литература

1. Burnouf T. Modern plasma fractionation. *Transfus Med Rev.* 2007; **21**(2): 101–17.
2. CPMP/BWP/268/95 Virus Validation Studies: the design contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses. European Medicines Agency. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003684.pdf.
3. Зубкова НВ. Обеспечение инфекционной безопасности препаратов из плазмы крови доноров. *Гематология и трансфузиология* 2014; (2): 44–9.
4. Общая фармакопейная статья «Лекарственные препараты из плазмы крови человека». Приказ Минздрава России № 768 от 21.11.2014. Available from: <http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/>.
5. WHO Guidance document on viral inactivation and removal procedure intended to assure the viral safety of blood plasma products. WHO Technical Report, Series № 924, Annex 4. 2004. Available from: http://www.who.int/bloodproducts/publications/WHO_TRS_924_A4.pdf?ua=1.
6. Dichtelmüller H, Flechsig E, Sananes F, Kretschmar M, Dougherty C. Effective virus inactivation and removal by steps of Biotest Pharmaceuticals IGIV production process. *Results in Immunology* 2012; (2): 19–24.
7. Jeong HS, Shin JH, Park YN, Choi JY, Kim YL, Kim BG et al. Development of real-time RT-PCR for evaluation of JEV clearance during purification of HPV type 16 L1 virus-like particles. *Biologicals* 2003; **31**(3): 223–9.
8. Blümel J, Burger R, Drosten C, Gröner A, Gürtler L, Heiden M et al. Parvovirus B19-Revised. *Transfus Med Hemother.* 2010; **37**(6): 339–50.
9. Филатова ЕВ, Зубкова НВ, Новикова НА, Голицына ЛН, Кузнецов КВ. Выявление маркеров парвовируса В19 в образцах крови доноров. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии* 2010; (5): 67–70.
10. Бельгесов НВ, Вильянинов ВН, Романенко СМ, Тихменева ИБ, Попова НН. Динамика выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций при обследовании первичных доноров в подразделении службы крови военно-медицинской академии в течение последних 13 лет. *Вестник гематологии* 2014; X(4): 6–7.
11. Human Plasma (pooled and treated for virus inactivation). 2007: 1646. *European Pharmacopoeia. 6st ed.* 2007. Available from: <http://www.dandybooksellers.com/catalog/European-Pharmacopoeia-Supplement-6.1-Book.html>.

Об авторах

Федеральное государственное унитарное предприятие «НПО по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127473, Москва, 2-й Волконский пер., 10.

Зубкова Наталья Васильевна. Заместитель начальника управления науки, д-р фарм. наук.

Кузнецова М. М. Технолог цеха диагностических препаратов Нижегородского филиала.

Зубов С. В. Начальник отделения производства НВ-диагностикумов/диагностикумов гепатита В цеха диагностических препаратов Нижегородского филиала.

Филатова Е. В. Старший микробиолог отделения производства НВ-диагностикумов/диагностикумов гепатита В цеха диагностических препаратов Нижегородского филиала, канд. биол. наук.

Опалева М. Ю. Микробиолог отделения производства НВ-диагностикумов/диагностикумов гепатита В цеха диагностических препаратов Нижегородского филиала.

Адрес для переписки: Зубкова Наталья Васильевна; n.v.zubkova@microgen.ru

Experimental study of the effectiveness of the removal of virus hepatitis B, C and parvovirus B19 by the fractionation of blood plasma with ethanol

N. V. Zubkova, M. M. Kuznetsova, S. V. Zubov, E. V. Filatova, M. Yu. Opaleva

Federal State Unitary Company «Microgen Scientific Industrial Company for Immunobiological Medicines» of Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

The purpose of the study was to assess the effectiveness of the removal of nucleic acids (NA), Hepatitis B (HBV) and C (HCV) viruses and parvovirus B19 (B19V) from blood plasma fractions obtained by alcohol separation. The studies were performed in a model experiment by fractionation normal pool plasma donation contaminated with virus-containing samples in the laboratory. It was found that the multi-step process to extract a fraction II, designed to provide the immunoglobulin G, provided the elimination of NA HBV and HCV to undetectable levels by PCR, and the total reduction factor compared to the original composition of the plasma HBV DNA >5,35 log, HCV RNA >4,84 log. Factor DNA V19V reduction was at the

level of 4,56 log (CI 4,49–4,63). Upon receipt of the fraction V (for albumin) reduction factor of the test virus was >3,0 log which in combination with additional purification step provides a reliable level of safety. The selection fraction I resulted in effectiveness of the elimination of HBV DNA and V19V DNA less than 2 orders, HCV RNA — less than 3 orders of magnitude, it is not enough to recognize the stage reliable. Experiments confirmed that the high risk of contamination of production pools parvovirus B19 additional safety measures are necessary, including mandatory investigation of plasma DNA V19V. In general the development of a full cycle of drug from blood plasma from donors, basic process alcohol fractionation steps necessary to supplement validation virus elimination and inactivation considering residual risk of contamination with pathogenic agents feedstock.

Key words: drugs from blood plasma; plasma fractions; viral safety; alcohol fractionation; viral inactivation; nucleic acids; virus concentration (C); viral load (VL); the reduction factor (RF).

For citation: Zubkova NV, Kuznetsova MM, Zubov SV, Filatova EV, Opaleva MYu. Experimental study of the effectiveness of the removal of virus hepatitis B, C and parvovirus B19 by the fractionation of blood plasma with ethanol. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16 (1): 43–48.

References

1. Burnouf T. Modern plasma fractionation. *Transfus Med Rev.* 2007; **21**(2): 101–17.
2. CPMP/BWP/268/95 Virus Validation Studies: the design contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses. European Medicines Agency. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003684.pdf.
3. Zubkova NV. Ensuring of the infectious safety of plasma blood preparations. *Gematologiya i transfuziologiya* 2014; (2): 44–9 (in Russian).
4. State Standard. General Pharmacopeia article «Human blood plasma derived drugs». Ministry of health order № 768 dated 21.11.2014. Available from: <http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/> (in Russian).
5. WHO Guidance document on viral inactivation and removal procedure intended to assure the viral safety of blood plasma products. WHO Technical Report, Series № 924, Annex 4. 2004. Available from: http://www.who.int/bloodproducts/publications/WHO_TRS_924_A4.pdf?ua=1.
6. Dichtelmüller H, Flechsig E, Sananes F, Kretschmar M, Dougherty C. Effective virus inactivation and removal by steps of Biotest Pharmaceuticals IGIV production process. *Results in Immunology* 2012; (2): 19–24.
7. Jeong HS, Shin JH, Park YN, Choi JY, Kim YL, Kim BG et al. Development of real-time RT-PCR for evaluation of JEV clearance during purification of HPV type 16 L1 virus-like particles. *Biologicals* 2003; **31**(3): 223–9.
8. Blümel J, Burger R, Drosten C, Gröner A, Gürtler L, Heiden M et al. Parvovirus B19-Revised. *Transfus Med Hemother.* 2010; **37**(6): 339–50.
9. Filatova EV, Zubkova NV, Novikova NA, Golitsina LN, Kuznetsov KV. Detection of parvovirus B19 markers in blood samples of donors. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* 2010; (5): 67–70 (in Russian).
10. Belgesov NV, Vilyaninov VN, Romanenko SM, Tikhmenev IB, Popova NN Dynamics of identifying of bloodborne pathogen markers during testing of primary donor blood services division of the Military Medical Academy for the last 13 years. *Vestnik gematologii* 2014; X(4): 6–7 (in Russian).
11. Human Plasma (pooled and treated for virus inactivation). 2007:1646. European Pharmacopoeia. 6st ed. 2007. Available from: http://www.dandybooksellers.com/acatalog/European_Pharmacopoeia_Supplement_6.1_Book.html.

Authors

Federal State Unitary Company «Microgen Scientific Industrial Company for immunobiological medicines» of Ministry of Health of the Russian Federation, 10 2st Volkonskiy lane, Moscow, 127473, Russian Federation.

Zubkova NV. Deputy head of Science Department. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Kuznetsova MM. Technologist of diagnostic products department of Nizhny Novgorod branch.

Zubov SV. Head of compartment of HB diagnosticums and hepatitis B diagnosticums production of diagnostic products department of Nizhny Novgorod branch.

Filatova EV. Senior microbiologist of HB diagnosticums and hepatitis B diagnosticums production of diagnostic products department of Nizhny Novgorod branch. Candidate of Biological Sciences.

Opaleva MYu. Microbiologist of HB diagnosticums and hepatitis B diagnosticums production of diagnostic products department of Nizhny Novgorod branch.

Оценка подлинности и стабильности вакцины БЦЖ методом мультиплексной ПЦР

Д. Т. Леви¹, Ю. И. Обухов¹, Н. В. Александрова¹, Р. А. Волкова¹, Е. В. Эльберт¹,
М. В. Альварес Фигероа², А. В. Прокопенко², Р. И. Луданный²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

² Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия

Поступила 14.12.2016. Принята к публикации 17.02.2016.

Метод мультиплексной полимеразной цепной реакции использовали для оценки стабильности 7 посевных серий субштамма *Mycobacterium bovis* BCG-1, Россия, применявшихся для изготовления вакцины БЦЖ с 1948 г. по настоящее время. Для ПЦР использованы праймеры, подобранные к 5 участкам области RD и 1 участку повторяющихся элементов межгенной области оперона *SenX3-RegX3*. Электрофореграммы продуктов амплификации для 7 посевных серий были идентичны и отличались от электрофореграмм других известных субштаммов БЦЖ, взятых в качестве контроля. Аналогичные результаты получены при генотипировании 32 коммерческих серий вакцины БЦЖ, изготовленных из субштамма *M. bovis* BCG-1, Россия тремя производителями. Полученные данные подтвердили стабильность посевных серий вакцины БЦЖ, использовавшихся более 60 лет, и адекватность принятой системы ведения штамма. Апробированный метод мультиплексной ПЦР с отечественными реактивами может быть принят для подтверждения идентичности посевного материала и вакцины отечественному субштамму БЦЖ (*M. bovis* BCG-1) при выполнении теста «Подлинность». Метод адекватен и воспроизводим.

Ключевые слова: посевная серия; мультиплексная полимеразная реакция; субштаммы БЦЖ; стабильность; подлинность.

Библиографическое описание: Леви ДТ, Обухов ЮИ, Александрова НВ, Волкова РА, Эльберт ЕВ, Альварес Фигероа МВ, Прокопенко АВ, Луданный РИ. Оценка подлинности и стабильности вакцины БЦЖ методом мультиплексной ПЦР. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; 16 (1): 49–54.

Созданный в 1921 году французскими учеными аттенуированный штамм БЦЖ (BCG — *Bacillus Calmette-Guerin*) был предложен исследователям других стран для производства вакцины против туберкулеза. При изготовлении вакцины БЦЖ производители использовали питательные среды из местного сырья, различные условия и сроки культивирования микобактерий, вносили изменения в технологию получения вакцины. В результате этого дочерние штаммы БЦЖ, которые принято называть субштаммами, различаются между собой по морфологии клеток, антигенному составу, ростовым свойствам, способности вызывать гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ), остаточной вирулентности, от которой зависит реактогенность и защитные свойства вакцины [1, 2]. С 90-х годов прошлого столетия этим различиям между субштаммами БЦЖ уделяется значительное внимание. Исследования, проведенные в последние годы под эгидой ВОЗ, показали, что генетические особенности субштаммов гораздо более выражены. Так, М. А. Behr, Р. М. Small [3], исследуя историю происхождения и генетический полиморфизм 13 субштаммов БЦЖ, разделили их на три группы по количеству копий IS6110 и наличию или отсутствию *mpt64*. Субштаммы BCG-Russia, BCG-Japan, BCG-Moreau, также как и оригинальный штамм BCG, имели 2 копии IS6110 и *mpt64*. Эта группа штаммов была получена в 1924–1925 гг. Другая группа, потерявшая 1 копию IS6110, была получена в 1925–1926 гг.; в нее вошли BCG-Sweden и BCG-Birkhaug. Штаммы третьей самой многочисленной группы (1926–1931 гг.) потеряли по одной копии IS6110 и *mpt64*. К ним относятся субштаммы BCG-Denmark и производные от него (BCG-Prague, BCG-Glaxo), BCG-Phipps, BCG-Tice,

BCG-Flappier и производный от него (BCG-Connaught), BCG-Pasteur. Установлено, что генетические изменения БЦЖ произошли вследствие эволюции *in vitro* в период аттенуации *M. bovis* [4–6]. Подобное разнообразие субштаммов показывает насколько важно проводить контроль за штаммом с применением молекулярно-генетических методов не только при производстве или совершенствовании вакцины БЦЖ, но и при создании новых вакцин на ее основе [1, 7, 8].

Всего существует несколько десятков субштаммов БЦЖ. ВОЗ было зарегистрировано 16 субштаммов [9]. Для производства вакцины БЦЖ в мире используется в основном 6 субштаммов БЦЖ: BCG-Moreau, BCG-Denmark (существует несколько вариантов этого субштамма), BCG-Connaught, BCG-Russia, BCG-Japan и BCG-Pasteur (несколько производителей используют 4 варианта этого субштамма) [5, 7, 10].

В начале 60-х годов прошлого столетия ВОЗ рекомендовала ввести в производство БЦЖ систему посевного материала (*seed lot system*). В последующем было установлено, что общее число пересевов от начала приготовления посевной серии до получения готового препарата не должно превышать 12 пассажей [10]. Следует подчеркнуть, что наша страна первой (1924 г.) получила *M. bovis* BCG от авторов штамма, первой зафиксировала его свойства как субштамма БЦЖ-1, лиофилизировав в 1940 г. [11, 12]. Проведенные исследования обеспечили разработку и внедрение в практику первой в мире сухой вакцины БЦЖ (1944 г.).

На основании международных коллаборативных исследований, проведенных в 2008–2012 гг., ВОЗ [13] утвер-

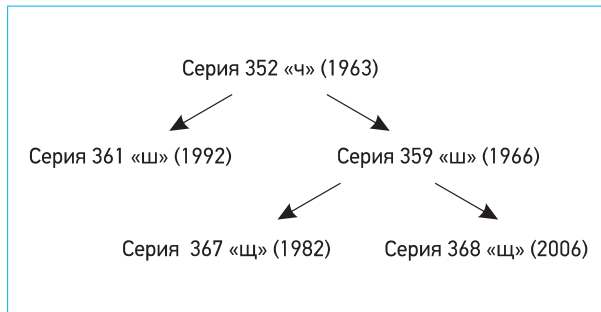


Рис. 1. Схема приготовления посевных серий субштамма БЦЖ-1.

дила 4 референс-субштамма для производства вакцины БЦЖ:

- BCG Vaccine of Tokyo 172 substrain (1st WHO Reference Reagent), NIBSC;
- BCG Vaccine of Danish 1331 substrain (1st WHO Reference Reagent), NIBSC;
- BCG Vaccine of Russian BCG-I substrain (1st WHO Reference Reagent); NIBSC (материал для этого референс-реагента был изготовлен из субштамма *M. bovis* BCG-1, Russia на производстве вакцины БЦЖ Национального центра инфекционных и паразитарных болезней, София, Болгария);
- BCG Vaccine of Moreau-RJ substrain (1st WHO Reference Reagent), NIBSC.

Согласно последним рекомендациям ВОЗ [13], каждая посевная и коммерческая серия вакцины должна быть испытана молекулярно-биологическим методом на подлинность, т.е. на соответствие именно тому штамму, который зарегистрирован в нормативной документации на препарат. Существующие микробиологические методы оценки вакцины по этому показателю недостаточны для подтверждения подлинности субштамма БЦЖ. Разработанные к настоящему времени молекулярно-биологические методы позволяют достаточно быстро подтверждать идентичность вакцины и референс-субштамма, выявить возможные существенные мутации в процессе производства. Несомненно, наиболее информативным является секвенирование материала. Однако в настоящее время этот метод остается достаточно дорогим для рутинного ис-

пользования. Быстрым экономичным методом является мультиплексная ПЦР с праймерами, позволяющими идентифицировать субштаммы БЦЖ. Метод апробирован в международных испытаниях, проведенных под эгидой ВОЗ [14].

В России принято готовить посевную серию вакцины БЦЖ *M. bovis* BCG-1 для использования в течение 10–20 лет. Лиофильно высушенный материал посевной серии хранят при температуре не выше минус 20°C [13], его свойства подтверждают каждые 5 лет. В музее микробактериальных культур ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России хранятся образцы лиофилизатов субштамма *M. bovis* BCG-1, включая посевные серии от 1947 года сушки по настоящее время.

Приготовленная в 1963 году серия № 352 «ч» была первой посевной серией, предназначенной для производства «сухой» (лиофилизат) вакцины БЦЖ.

Схема приготовления последующих серий посевного материала вакцины БЦЖ представлена на рисунке 1.

По принятой в стране системе идентификации субштамма БЦЖ-1 цифровым номером серии является число пассажей с момента приобретения штамма (т.е. количество пересевов на питательных средах), буквенный номер обозначает число пассажей за указанный период на картофельной среде с бычьей желчью, в скобках — год лиофилизации материала.

Цель исследования: мультиплексная полимеразная цепная реакция как тест подтверждения соответствия посевных и коммерческих серий вакцины БЦЖ субштамму *M. bovis* BCG-1, т.е. подлинности. Метод ПЦР, используемый как рутинный метод контроля подлинности вакцинного штамма BCG, должен быть по возможности недорогим, специфичным, чувствительным, воспроизводимым и надежным. Специфичность метода в основном определяется областью, к которой подобраны праймеры, а также оптимизацией условий проведения ПЦР.

В рамках исследования проводили также оценку стандартности отечественной системы получения посевных серий с 1947 г. по настоящее время. Исследовали генетическую стабильность посевного материала в процессе его хранения при минус 18°C, используя для амплификации известные праймеры.

Материалы и методы

1. Праймеры к 5 областям RD (1, 2, 8, 14 и 16) и к последовательности повторяющихся элементов межгенной области оперона *SenX3-RegX3*, которая имеет различное количество повторов в субштаммах *M. bovis* BCG, приготовлены ЗАО «Синтол» (табл. 1). Последовательность нуклеотидов одобрена ВОЗ, в том числе для коллаборативных испытаний [6, 7, 14].

2. Праймеры, полученные ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России из NIBSC для проведения международных коллаборативных испытаний.

3. Референс субштаммы ВОЗ (получены из NIBSC): Russian BCG-I substrain, Tokyo 172 substrain, Moreau-RJ substrain.

4. Субштаммы из коллекции ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России: *M. bovis* BCG Paster, *M. bovis* BCG Glaxo.

5. Субштамм *M. bovis* BCG-1 (лиофилизаты) для производства жидкой вакцины: БЦЖ генерация 90з (1950), БЦЖ генерация 150м (1954), БЦЖ генерация 44в (1948), БЦЖ генерация 696 (1948).

Таблица 1. Последовательность праймеров для мультиплексной ПЦР

Праймер	Последовательность	Регион
ET1	5'AAG CGG TTG CCG CCG ACC GAC C3'	Region of differens 1
ET2	5'CTG GCT ATA TTC CTG GGC CCG G3'	
ET3	5'GAG GCG ATC TGG CGG TTT GGG G3'	
RD2l	5'CCA GAT TCA AAT GTC CGA CC3'	Region of differens 2
RD2r	5'GTG TCA TAG GTG ATT GGC TT3'	
RD8l	5'ACT CCT AGC TTT GCT GTG CGC T3'	Region of differens 8
RD8r	5'GTA CTG CGG GAT TTG CAG GTT C3'	
RD14l	5'CAG GGT TGA AGG AAT GCG TGT C3'	Region of differens 14
RD14r	5'CTG GTA CAC CTG GGG AAT CTG G3'	
RD16l	5'ATC GTT CAC GGA CAG CCG TAG T3'	Region of differens 16
RD16r	5'CTC GAT CCA AGG TCA ACC ACG3'	
C3	5'GCG CGA GAG CCC GAA CTG C3'	SenX3-RegX3
C5	5'GCG CAG CAG AAA CGT CAG C 3'	

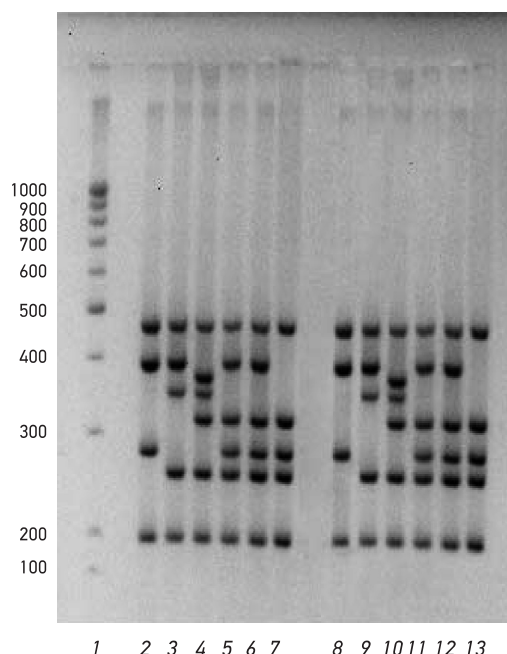


Рис. 2. Результаты мультиплексной ПЦР с праймерами ЗАО «Синтол» (дорожки 2–7) и с праймерами NIBSC (дорожки 8–13): 1 — маркер молекулярных масс 100 bp; 2 — субштамм BCG Paster; 3 — субштамм BCG Glaxo; 4 — субштамм BCG Tokyo; 5 — вакцина БЦЖ-М «Микроген» (серия 545 02.2012); 6 — субштамм BCG-1, Россия; 7 — субштамм BCG Moreau RJ; 8 — субштамм BCG Paster; 9 — субштамм BCG Glaxo; 10 — субштамм BCG Tokyo; 11 — вакцина БЦЖ-М «Микроген» (серия 545 02.2012); 12 — субштамм BCG-1, Россия; 13 — субштамм BCG Moreau RJ.

6. Посевные серии для производства (лиофилизаты) вакцины БЦЖ: сер. 367«щ» (1982), сер. 361«ш» (1992), сер. 368«щ» (2006).

7. Коммерческие серии вакцины БЦЖ производства: «НПО Микроген», Ставрополь, Россия; ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» филиал «Медгамал», Москва, Россия; ВВ-NCIPD, София, Болгария.

Подготовка образцов

Вакцину БЦЖ, лиофилизат в ампулах, ресуспендировали в 1 мл раствора натрия хлорида 0,9%. По 100 мкл полученной суспензии отбирали в пробирки типа Эппендорф для выделения ДНК и исследований методом мультиплексной ПЦР.

Предварительные испытания позволили выбрать отечественные наборы реагентов для подготовки проб и проведения ПЦР:

Выделение ДНК проводили с помощью комплекта реагентов «Рибо-преп» для выделения РНК/ДНК из клинического материала производства ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора, Россия, серия А22.11.11, в соответствии с Инструкцией по применению.

Аmplификацию осуществляли с использованием набора реагентов для амплификации «GenPak PCR Core» производства компании ООО «Isogene», Россия, кат № U 1010, серия 40212.

Состав смеси для ПЦР (на 1 пробирку): 25 мкл буфера для ПЦР («МастерМикс»), по 2 мкл каждого праймера и по 1 мкл выделенной ДНК. Конечная концентрация ингредиентов в ПЦР-смеси составила:

- дезоксинуклеозидтрифосфатов — 200 мкМ;

- Taq ДНК-полимеразы 1 у;
- магния хлорида — 2,5 мМ;
- праймеры ET1 и ET3 — 0,2 мкМ;
- остальные праймеры — 0,4 мкМ.

Аmplификацию проводили на приборе с активным регулированием температуры «Терцик» производства ЗАО «ДНК-Технология», Россия, по программе:

- 94°C — 10 мин (1 цикл);
- 94°C — 1 мин;
- 55°C — 1 мин (30 циклов);
- 72°C — 2 мин;
- 72°C — 10 мин (1 цикл).

Для детекции продуктов амплификации использовали электрофорез в 3% агарозном геле в трис-боратном буфере при 200 В в течение 2 ч (пробег красителя — примерно на 0,5 длины геля). Длина геля — 10 см. В качестве маркера молекулярных масс использовали маркер с шагом 100 bp или 50 bp. Нагель наносили по 15 мкл каждого образца.

При проведении валидации метода мультиплексной ПЦР исследовали материал четырех зарубежных субштаммов (BCG Paster, BCG Tokyo, BCG Glaxo, BCG Moreau RJ), посевной серии 361«щ» (1992) субштамма *M. bovis* BCG-1 и приготовленной из нее коммерческой серии вакцины БЦЖ-М производства «НПО «Микроген». Для постановки реакции амплификации использовали праймеры, полученные из NIBS в рамках международных коллаборативных исследований, и праймеры, изготовленные ЗАО «Синтол».

Результаты

Результаты валидации представлены на рисунке 2.

Анализ полученных данных показал, что результаты испытания были равнозначными при использовании для мультиплексной ПЦР праймеров двух независимых изготовителей. С праймерами ЗАО «Синтол» ампликоны посевной серии 361«щ» и коммерческой серии вакцины БЦЖ были идентичны между собой и отличались от картины амплификации зарубежных субштаммов. Ампликоны зарубежных субштаммов различались между собой в соответствии с составом их ДНК. Картина, полученная с использованием праймеров производства «Синтол», была аналогична результатам, полученным с референтными праймерами (NIBSC). Такие же результаты получены при постановке мультиплексной ПЦР в рамках данного исследования сотрудниками ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва. Анализ данных литературы также подтвердил, что полученные при анализе референтных субштаммов БЦЖ результаты (ампликоны и их размеры) соответствовали результатам, опубликованным другими исследователями [6, 10, 14].

Проведенный валидационный анализ мультиплексной ПЦР с 5 известными субштаммами БЦЖ показал, что метод мультиплексной ПЦР с праймерами, приготовленными фирмой ЗАО «Синтол», является пригодным для проведения дальнейших исследований. Метод адекватен и воспроизводим.

Мультиплексная ПЦР была применена для изучения стабильности отечественного субштамма путем постановки реакции амплификации с ДНК, выделенной из штаммов БЦЖ, лиофилизированных за период с 1948 по 2006 гг. На рисунке 3 представлена электрофореграмма

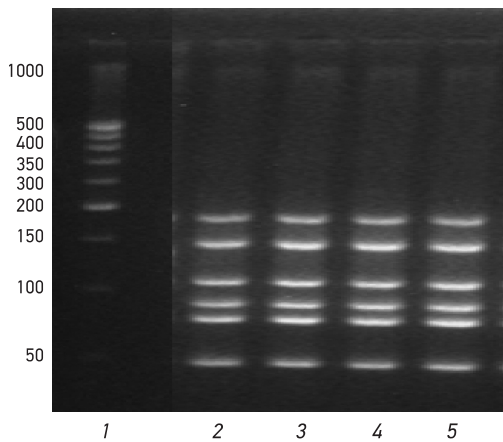


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов амплификации при анализе лиофилизатов БЦЖ 1948–1954 гг. Исследуемый материал нанесен по схеме: 1 — маркер молекулярных масс 100 bp; 2 — лиофилизат БЦЖ генерация 90з (1950); 3 — лиофилизат БЦЖ генерация 150м (1954); 4 — лиофилизат БЦЖ генерация 44в (1948); 5 — лиофилизат БЦЖ генерация 696 (1948).

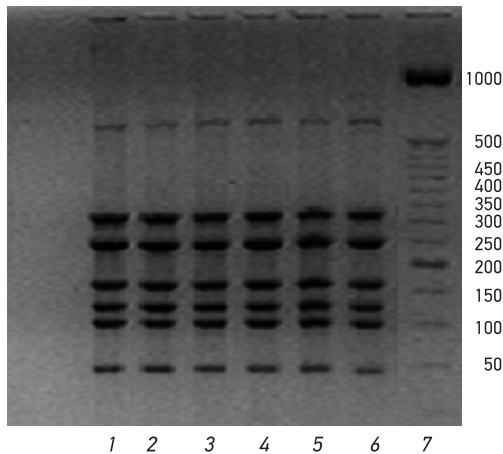


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов амплификации при анализе серий посевного материала 1982–2006 гг. Исследуемый материал нанесен по схеме: 1 — посевная серия 367«щ» (1982); 2 — посевная серия 367«щ» (1982) в разведении 1:10; 3 — посевная серия 361«ш» (1992); 4 — посевная серия 361«ш» (1992) в разведении 1:10; 5 — посевная серия 368«щ» (2006); 6 — посевная серия 368«щ» (2006) в разведении 1:10; 7 — маркер молекулярных масс 50 bp.

исследования ДНК материала субштамма *M. bovis* BCG-1, лиофилизированного в 1948–1954 гг.

В результате проведенного исследования продемонстрирована идентичность размеров продуктов амплификации областей RD и *senX3-regX3* всех исследованных образцов субштамма БЦЖ-1 ранних лиофилизатов: генерация 44в и 696 (1948), генерация 90з (1950), генерация 150м (1954). Во всех исследованных образцах были выявлены характерные для штамма БЦЖ-1 (Россия) шесть участков (472; 401; 315; 276; 252; и 196 п.н., соответствующие областям RD8; RD16; RD2; *senX3-regX3*; RD14 и RD1 соответственно). Картина генотипирования ранних лиофилизатов БЦЖ, использованных для производства жидкой вакцины БЦЖ (рис. 3), соответствовала картине, полученной при генотипировании субштамма *M. bovis* BCG-1, Россия (дорожки 6 и 12 на рис. 2).

При исследовании поздних посевных материалов вакцины БЦЖ — лиофилизатов посевных серий 1982–2006 гг.: сер. 367«щ» (1982), сер. 361«ш» (1992), сер. 368«щ» (2006), представленных на рисунке 4, получены аналогичные данные. Анализ результатов исследования этих посевных серий показал, что все 6 участков генов, позволяющих идентифицировать испытуемый материал БЦЖ как *M. bovis* BCG-1 (Россия), сохранены. В каждой посевной серии присутствуют 5 участков области RD и 1 участок повторяющихся элементов межгенной области оперона *SenX3-RegX3*. При разведении изучаемого материала и маркера в 10 раз получены такие же результаты.

Полученные данные генотипирования методом мультиплексной ПЦР материала вакцины БЦЖ, накопленного за 60 лет, подтверждают, что принятый в стране метод сохранения свойств *M. bovis* BCG-1 путем лиофилизации посевных серий, рассчитанных на выпуск вакцины БЦЖ в течение 10 и более лет, и ограничение числа пассажей при изготовлении коммерческих серий 4–6 пересевами обеспечивает генетическую стабильность отечественного субштамма БЦЖ.

Для оценки пригодности метода мультиплексной ПЦР при выполнении теста «Подлинность» в целях экспертизы качества вакцины БЦЖ исследовали ДНК коммерческих серий препарата отечественного производства. В результате исследований показана идентичность электрофореграмм 10 серий вакцины БЦЖ-М (по 5 серий производства «НПО «Микроген» и филиала «Медгамал» ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи), 24 серий вакцины БЦЖ (по 10 серий производства каждого из этих предприятий) и трех посевных серий, из которых были получены коммерческие серии вакцины. Электрофореграммы коммерческих и посевных серий полностью совпадали. Исследование подтвердило присутствие в каждом изученном материале ДНК 5 участков области RD и 1 участка повторяющихся элементов межгенной области оперона *SenX3-RegX3*. Результаты анализа 2 коммерческих серий болгарского производства, приготовленных из субштамма *M. bovis* BCG-1, подтверждали, как и результаты исследования отечественных препаратов, идентичность штамму-продуценту, и характерные отличия от 3 зарубежных референс-субштаммов (субштамм BCG Danish 1331, субштамм BCG Tokyo, субштамм BCG Moreau RJ), которые использованы в этом эксперименте в качестве контроля.

Полученные данные позволяют рекомендовать метод мультиплексной ПЦР в качестве молекулярно-генетического метода оценки подлинности коммерческих серий вакцины БЦЖ, так как этот метод дает возможность оценить не только принадлежность штамма БЦЖ к кислотоустойчивым микобактериям, но и идентифицировать его как штамм *M. bovis* BCG-1.

Обсуждение

Существующий метод контроля вакцины БЦЖ по показателю «Подлинность» заключается в исследовании мазков лекарственного препарата вакцины БЦЖ, окрашенных на кислотоустойчивость по методу Циля-Нильсена, и по визуальному анализу характера колоний микроорганизма на среде Левенштейна-Йесена. В результате этого теста может быть сделан вывод о принадлежности бактерий к кислотоустойчивым, медленно растущим бактериям, образующим R-колонии на плотной яичной среде. На современном этапе этих данных недостаточно для подтверждения подлинности препарата, тем более принадлежности

микобактерий БЦЖ к определенному субштамму. Так, например, Японский субштамм BCG Tokyo-172, наличие двух генотипов у которого доказано в мультиплексной ПЦР, растет на агаре Миддлбука 7H10 в виде 2 типов колоний. Генотип 1, у которого в RD 16 регионе отсутствует 22 bp участок, растет в виде R-колоний, и генотип 2, у которого подобно большинству субштаммов БЦЖ в RD 16 нет делеции участка 22 bp, растет в виде S-колоний [5, 15]. ВОЗ рекомендует для оценки коммерческих серий вакцины БЦЖ по показателю «Подлинность» использовать один из молекулярно-биологических методов [13].

При аттестации 3 субштаммов БЦЖ в международном коллаборативном исследовании был применен метод мультиплексной ПЦР с праймерами, имеющими определенную последовательность нуклеотидов. С помощью этого метода установлены характерные различия между *M. bovis* BCG Tokyo-172, *M. bovis* BCG Russian, *M. bovis* Danish 1331. Полученные в нашем исследовании данные полностью соответствовали результатам других исследователей. В соответствии с этими данными метод мультиплексной ПЦР с отечественными реактивами правомерно использовать в качестве валидированного молекулярно-генетического метода для теста «Подлинность» при проведении контроля препаратов вакцин БЦЖ при их производстве и сертификации. Этот метод позволяет оценить подлинность препарата, т.е. его идентичность отечественному субштамму БЦЖ-1 (*M. bovis* BCG-1) по наличию 5 участков области RD и 1 участку повторяющихся элементов межгенной области оперона *SenX3-RegX3*.

Заключение

Проведенные исследования посевных серий вакцины БЦЖ, лиофилизированных с 1948 по 2006 г., подтвердили адекватность принятой в стране системы приготовления и использования посевного материала для производства вакцины БЦЖ. Генетическая стабильность посевных серий позволяет сохранять и контролировать остаточную вирулентность штамма на постоянном уровне.

Апробированный метод мультиплексной ПЦР с отечественными реактивами может быть принят для подтверждения идентичности посевного материала и вакцины отечественному субштамму БЦЖ (*M. bovis* BCG-1) при вы-

полнении теста «Подлинность». Метод адекватен и воспроизводим.

Литература

1. Блум БР, Файн ПЕ. Опыт вакцинации БЦЖ: будущие вакцины против туберкулеза. В кн.: Туберкулез. Патогенез, защита, контроль. М.: Медицина; 2002. С. 575–606.
2. Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S, et al. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science* 1999; 284: 1520–3.
3. Behr MA, Small PM. A historical and molecular polygeny of BCG strains. *Vaccine* 1999; 17: 915–22.
4. Honda I, Seki M, Ikeda N, Yano I, Koyama A, Toida I. Identification of two subpopulations of BCG Calmette-Guerin (BCG) Tokyo substrain with different RD 16 regions. *Vaccine* 2006; 24: 4969–74.
5. Talbot EA, Williams DL, Frothingham R. PCR Identification of *Mycobacterium bovis* BCG. *J Clin Microbiol.* 1997; 35(3): 566–9.
6. Bedwell J, Kairo SK, Behr MA, Bygraves JA. Identification of sub-strains of BCG vaccine using multiplex PCR. *Vaccine* 2001; 19(15–16): 2146–51.
7. Стукова МА, Заболотных НВ, Виноградова ТИ, Гергерт ВЯ, Ант АС, Капельнянц АС, Ерохин ВВ, Яблонский ПК, Киселев ОИ. Профилактика туберкулеза: современные подходы к разработке противотуберкулезных вакцин. *Вестник РАМН, Актуальные вопросы фтизиатрии* 2012; (11): 45–52.
8. Milstein JB, Gibson JJ. Quality control of BCG vaccine by WHO: a review of factors that may influence vaccine effectiveness and safety. *WHO Bulletin OMS* 1990; 68(1): 93–108.
9. Trovero A, Arguelles C, Cataldi A. Preparation of a working seed lot of BCG and quality control by PCR genotyping. *Revista Argentina de Microbiologia* 2010; 42: 4–10.
10. Лещинская ЕН, Вакенгут АМ. Условия длительного сохранения вакцины БЦЖ. *Проблемы туберкулеза* 1941; (3): 63–6.
11. Лещинская ЕН, Вакенгут АМ. Дальнейшее изучение сухой глюкозной вакцины БЦЖ. *Проблемы туберкулеза* 1942, (5–6): 47–50.
12. WHO Technical Report Series. № 977, 60 report, 2013, 16–8.
13. Markey K, Ho MM, Choudhury B, Seki M, Ju L, Luiz RR, Castello-Branco LR, Gairola S, Zhao A, Shibayama K, Andre M, Corbel MJ. Report of an collaborative study to evaluate the suitability of multiplex PCR as an identity assay for different sub-strains of BCG vaccine. *Vaccine* 2010; 28: 6964–9.
14. Wada T, Maruyama F, Iwamoto T, Maeda S, Yamamoto T, Nakagawa I, Yamamoto S, Ohara N. Deep sequencing analysis of the heterogeneity of seed and commercial lots of the bacillus Calmette-Guérin (BCG) tuberculosis vaccine substrain Tokyo-172. Available from: www.nature.com/Scientificreports | 5:17827 | DOI: 10.1038 / srep17827 (2015); 1–9.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.

Леви Диана Тимофеевна. Главный эксперт Управления экспертизы противобактериальных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Обухов Юрий Иванович. Начальник Управления экспертизы противобактериальных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП.

Александрова Наталья Владимировна. Главный эксперт лаборатории противобактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Волкова Рауза Асхатовна. Начальник лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества МИБП, д-р биол. наук.

Эльберт Елизавета Викторовна. Ведущий эксперт лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, дом 3а.

Альварес-Фигероа Мария Викторовна. Руководитель научной группы разработки новых методов диагностики туберкулеза отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии, канд. мед. наук.

Прокопенко Анастасия Викторовна. Младший научный сотрудник.

Луданный Руслан Игоревич. Ведущий научный сотрудник, канд. биол. наук.

Адрес для переписки: Леви Диана Тимофеевна; Levi@expmed.ru

Identity and stability assessment of BCG vaccine by multiplex PCR

D. T. Levi¹, Yu. I. Obukhov¹, N. V. Aleksandrova¹, R. A. Volkova¹, E. V. Elbert¹, M. V. Alvarez Figueroa², A. V. Prokopenko², R. I. Ludanniy²

¹ Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Federal Budget Institution of Science «Central Epidemiology Scientific and Research Institute», Moscow, Russia

Multiplex polymerase chain reaction method was used to assess the stability of 7 seed lots of a substrain *Mycobacterium bovis* BCG-1, Russia, used for the manufacture of BCG vaccine since 1948 till present. For performing PCR we used primers, matching 5 parts of the RD field and 1 part of repeating elements of intergenic operon *senX3-regX3* region. Electrophoregrams of amplification products for 7 seed lots of products were identical and differed from the electrophoregrams of other known BCG substrains used as control samples. Similar results were obtained for genotyping of 32 commercial lots of BCG vaccine, manufactured using substrain *M. bovis* BCG-1 by three Russian manufacturers. The obtained data confirmed the stability of seed lots of BCG vaccine used for more than 60 years, and the adequacy of the settled system of strain maintenance. The assessed method of multiplex PCR with domestic reagents can be accepted for confirming that the seed and the vaccine are identical to domestic BCG vaccine substrain (*M. bovis* BCG-1) when performing «Identification» test. The method is adequate and reproducible.

Key words: seed lot; multiplex polymerase reaction; BCG substrains; stability; identity.

For citation: Levi DT, Obukhov Yul, Aleksandrova NV, Volkova RA, Elbert EV, Alvarez Figueroa MV, Prokopenko AV, Ludanniy RI. Identity and stability assessment of BCG vaccine by multiplex PCR. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16 (1): 49–54.

References

1. Bloom BR, Fine PE. Previous BCG vaccination: future vaccine against tuberculosis. In: *Tuberculosis. Pathogenesis, protection and control*. Moscow: Meditsina; 2002. P. 575–606 (in Russian).
2. Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S, et al. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science* 1999; 284: 1520–3.
3. Behr MA, Small PM. A historical and molecular polygeny of BCG strains. *Vaccine* 1999; 17: 915–22.
4. Honda I, Seki M, Ikeda N, Yano I, Koyama A, Toida I. Identification of two subpopulations of BCG Calmette-Guerin (BCG) Tokyo sub-strain with different RD 16 regions. *Vaccine* 2006; 24: 4969–74.
5. Talbot EA, Williams DL, Frothingham R. PCR Identification of *Mycobacterium bovis* BCG. *J Clin Microbiol.* 1997; 35(3): 566–9.
6. Bedwell J, Kairo SK, Behr MA, Bygraves JA. Identification of sub-strains of BCG vaccine using multiplex PCR. *Vaccine* 2001; 19(15–16): 2146–51.
7. Stukova MA, Zabolotnyh NV, Vinogradova TI, Gergert VYa, Apt AS, Kaprelyants AS, Erohin VV, Yablonskiy PK, Kiselev OI. Tuberculosis prevention: modern approaches to the development of TB vaccines. *Vestnik RAMN, Aktualnye voprosy ftiziatritii* 2012; (11): 45–52 (in Russian).
8. Milstein JB, Gibson JJ. Quality control of BCG vaccine by WHO: a review of factors that may influence vaccine effectiveness and safety. *WHO Bulletin OMS* 1990; 68(1): 93–108.
9. Trovero A, Arguelles C, Cataldi A. Preparation of a working seed lot of BCG and quality control by PCR genotyping. *Revista Argentina de Microbiologia* 2010; 42: 4–10.
10. Leschinskaya EN, Vakengut AM. Terms of long-term storage of BCG vaccine. *Problemy tuberkuleza* 1941; (3): 63–6 (in Russian).
11. Leschinskaya EN, Vakengut AM. Further study of the dry glucose BCG vaccine. *Problemy tuberkuleza* 1942, (5–6): 47–50 (in Russian).
12. WHO Technical Report Series. № 977, 60 report, 2013, 16–8.
13. Markey K, Ho MM, Choudhury B, Seki M, Ju L, Luiz RR, Castello-Branco LR, Gairola S, Zhao A, Shibayama K, Andre M, Corbel MJ. Report of an collaborative study to evaluate the suitability of multiplex PCR as an identity assay for different sub-strains of BCG vaccine. *Vaccine* 2010; 28: 6964–9.
14. Wada T, Maruyama F, Iwamoto T, Maeda S, Yamamoto T, Nakagawa I, Yamamoto S, Ohara N. Deep sequencing analysis of the heterogeneity of seed and commercial lots of the bacillus Calmette-Guérin (BCG) tuberculosis vaccine substrain Tokyo-172. Available from: www.nature.com/Scientificreports | 5:17827 | DOI: 10.1038/srep17827 (2015); 1–9.

Authors

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8-2 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Levi DT. Chief expert of Office of expertise of antibacterial medical immunobiological preparations of Center of expertise and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

Obukhov Yul. Head of Office of expertise of antibacterial medical immunobiological preparations of Center of expertise and control of medical immunobiological preparations.

Aleksandrova NV. Chief expert of Laboratory of bacterial vaccines of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Medical Sciences.

Volkova RA. Head of the laboratory of molecular biology and genetic testing methods of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Doctor of Biological Sciences.

Elbert EV. Leading expert of the laboratory of molecular biology and genetic testing methods of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Biological Sciences.

Federal Budget Institution of Science «Central Research Institute for Epidemiology» of Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 3a Novogireevskaya street, Moscow, 111123, Russian Federation.

Alvarez-Figueroa MV. Head of the research group to develop new methods for diagnosis of tuberculosis of department of molecular diagnostics and epidemiology. Candidate of Medical Sciences.

Prokopenko AV. Junior researcher.

Ludanniy RI. Leading researcher. Candidate of Biological Sciences.

Правила направления, рецензирования и опубликования научных статей в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение»

Журнал «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» является рецензируемым научно-практическим журналом. В журнале публикуются статьи, посвященные проблемам разработки, исследования, контроля и применения профилактических, диагностических и лечебных биологических препаратов.

Решение о возможности публикации статьи в журнале принимается главным редактором (заместителем главного редактора) с учетом мнения рецензентов — см. п. 7 «Порядка рецензирования статей в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» (приведен далее) и редакционной коллегии.

Если рецензии положительны, но содержат замечания и пожелания, редакция направляет их авторам. Автор должен ответить рецензентам по всем пунктам их рецензий. После такой доработки статьи, при отсутствии принципиальных возражений со стороны редакционной коллегии, главный редактор (заместитель главного редактора) принимает решение о ее публикации. В случае отклонения статьи редакция направляет авторам рецензии либо аргументированное письмо редактора. Редколлегия не вступает в дискуссию с авторами отклоненных статей, за исключением случаев явного недоразумения. Рукописи не возвращаются.

Редакция журнала при приеме и оформлении статей руководствуется требованиями Минобрнауки России к рецензируемым научным изданиям, утвержденным приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 25.07.2014 г. № 793 (в ред. от 03.06.2015 г.) и положениями «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (5-я редакция) — так называемым Ванкуверским стилем (<http://www.library.uq.edu.au/training/citation/vancouver.pdf>; <http://www.m-vesti.ru/rules/vankuver.html>).

Основные рубрики журнала:

- обзоры;
- проблемные статьи;
- оригинальные статьи;
- особое мнение;
- исторический архив;
- обмен опытом;
- случаи из практики;
- вопросы и ответы;
- конгрессы, съезды, конференции;
- новости Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ);
- новости науки;
- новости Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Требования к статье

1. Статьи предоставляют в виде бумажной версии (в 1 экземпляре) и электронной версии, полностью идентичной распечатанному на бумаге экземпляру. Электронная версия представляется в одном из форматов MS Word (*.doc, *.docx или *.rtf) на съемных носителях (CD-диски) или по электронной почте, адрес которой указан ниже.

Каждая статья должна иметь направление от учреждения, в котором она выполнена, с разрешением на опубликование.

Размер экспериментальной статьи не должен превышать 16 страниц формата А4 (шрифт Times New Roman, размер 14). В указанный объем входят: текст статьи, таблицы, резюме и список источников литературы (на отдельных листах). Объем обзорной статьи может превышать размер экспериментальной статьи, но его необходимо согласовывать с редакцией. Текст должен располагаться на одной стороне листа с двойным интервалом между строками, с полями на левой стороне листа (не менее 3,5 см) и на правой стороне листа (не менее 1 см).

Статьи должны быть тщательно отрецензированы. Авторы несут полную ответственность за безупречное языковое оформление текста, особенно за правильную научную терминологию.

2. Схема построения статьи:

- В левом верхнем углу приводится шифр УДК.
- Название статьи (прописными буквами, не печатать заглавных букв).
- Фамилия(и) автора(ов).
- Организация (если авторы из разных организаций, то следует поставить одинаковые значки около фамилии автора и названия соответствующей организации).
- Полный почтовый адрес организаций (с указанием индекса города, названия улицы, номера дома; для университетов — название факультета или института).
- Адрес электронной почты.
- «Статья поступила» (дата проставляется редакцией), «принята к печати» (дата проставляется редакцией).
- Аннотация статьи (не более 200–250 слов, аннотация должна содержать максимальное число ключевых слов, характеризующих содержательную часть статьи).
- Ключевые слова.
- Содержание статьи (редколлегия рекомендует стандартизировать структуру представляемого материала, излагая его в следующей последовательности: «Введение», заканчивающееся формулировкой цели работы; «Материалы и методы»; «Результаты и обсуждение»; «Выводы»).
- Подписи к рисункам (на отдельной странице(ах)).
- Таблицы (на отдельной странице).
- Список литературы (на отдельной странице(ах)).
- Рисунки (на отдельных страницах).

При подготовке библиографической информации о себе, необходимо помнить, что международные системы библиометрического анализа строятся на статистике, получаемой в результате автоматического наложения и получения совпадений (установления связей, идентичности) анализируемых объектов по их формальным признакам принадлежности к определенной семантической единице (в данном случае, к определенному автору, организации, названию журнала и т.д.). Поэтому фамилии авторов должны быть продублированы на английском языке. Фамилии авторов рекомендуется транслитерировать так же, как в предыдущих публикациях или по системе BGN (Board of Geographic Names), см. сайт <http://www.translit.ru>.

На английский язык должны быть продублированы данные об аффилировании авторов (наименования орга-

низаций, представивших статью, и адреса авторов). Например:

Kuban State University, 149 Stavropolskaya Street, 350040 Krasnodar, Russian Federation;
M. V. Lomonosov Moscow Academy of Fine Chemical Technology, 86 Vernadskogo Ave., Moscow 119571, Russian Federation;
Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8-2 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation;
Crimea State Medical University named after SI St. Georgievsky, Department of Pediatrics with the Course of Child's Infectious Diseases, 5/7 Lenin boulevard, Simferopol, 95006, Russian Federation;
Zakusov State Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow 125315, Russian Federation.

Можно не указывать улицу, но обязательно привести почтовый индекс.

Для авторов важно придерживаться указания одного места работы, так как данные о принадлежности организации являясь одним из основных определяющих признаков для идентификации автора поисковыми системами. В отношении организации(ий) важно, чтобы был указан официально принятый английский вариант наименования (в соответствии с Уставом организации). Употребление в статье официального, без сокращений, названия организации на английском языке позволит наиболее точно идентифицировать принадлежность авторов поисковыми системами, предотвратит потери статей в системе анализа организаций и авторов международными базами цитирования.

В конце статьи необходимо на русском и английском языках привести сведения о должностях, занимаемых авторами в организации, представляющей статью, ученую степень и ученое звание.

Название статьи должно быть информативным и не содержать сокращений за исключением общепринятых. Название статьи не должно начинаться с неопределенных слов, например, таких как «некоторые вопросы», «изучение», «исследование» и т.п., которые заведомо не дают представления, о чем конкретно идет речь в содержании работы.

Сокращения слов и аббревиатуры допускаются по тексту статьи, если первоначально приведено полное название. Фамилии иностранных авторов следует писать в оригинальной транскрипции. Не допускаются сокращения простых слов, даже если они часто повторяются. Дозы лекарственных средств, единицы измерения и другие численные величины должны быть указаны в системе СИ.

3. Для оригинальных статей следует придерживаться следующего плана написания:

а) **введение** должно содержать краткую оценку современного состояния проблемы, обоснование ее актуальности, и формулировку цели и задач работы. Формулировка цели работы должна соответствовать названию статьи;

б) раздел **«Материалы и методы»** должен содержать сведения о методах исследования, достаточные для их воспроизведения. Автор должен пояснить, почему именно данные методы выбраны им для исследования, в чем их преимущества перед другими для решения этой же задачи. Необходимо указать условия и последовательность операций при постановке экспериментов, однако не

следует подробно описывать методы, описанные ранее. В этом случае достаточно дать ссылку на соответствующий источник литературы. Ссылки на известные стандартные методы (например, метод определения белка по Лоури или методы клонирования генов по Сэмбуку) приводить необязательно, достаточно назвать метод. Необходимо указывать квалификацию и происхождение наиболее важных для воспроизведения метода реактивов, фирмы и страны-производители приборов и оборудования, задействованных в экспериментах. Название компаний следует давать в оригинальной транскрипции. Все штаммы микроорганизмов и линии культур клеток, использованных при проведении исследований, должны быть депонированы в одной из национальных коллекций. Необходимо указать название коллекции и регистрационный номер штамма;

в) **Статистика**. Статистические методы должны быть приведены настолько детально, чтобы грамотный читатель, имеющий доступ к исходным данным, мог проверить представленные в статье результаты. По возможности следует подвергать полученные данные количественной оценке и представлять их с соответствующими показателями ошибок измерения и неопределенности (такими, как доверительные интервалы). Не следует полагаться исключительно на статистическую проверку гипотез, например, на использование значений p , которые не отражают всей полноты информации. Выбор экспериментальных объектов должен быть обоснован. Следует приводить детали процесса рандомизации. Необходимо привести методы, использованные для обеспечения «слепого» контроля, и описать насколько успешно. При описании структуры исследования и статистических методов ссылки должны приводиться по возможности на известные руководства и учебники. Необходимо указать, какие компьютерные программы, доступные для широкого пользования, применялись в работе;

г) раздел **«Результаты и обсуждение»** должен быть написан кратко и логично. Данные таблиц и рисунков не должны дублировать друг друга. Изложение результатов должно заключаться в выявлении обнаруженных закономерностей, а не механическом пересказе содержания таблиц и графиков. Результаты рекомендуется излагать в прошедшем времени и утвердительными предложениями. Обсуждение не должно повторять описание результатов исследования;

д) **выводы** должны соответствовать цели исследования и быть основаны на полученных результатах. Основной вывод должен содержать ответ на вопрос, поставленный во вводной части статьи. Выводов не должно быть больше 3–5. При их большом количестве теряется значимость основного (основных) вывода;

е) если публикация подготовлена при поддержке какой-либо компании или фонда, то эти сведения указывают после выводов;

ж) автор статьи обязан давать ссылки на источник, откуда он заимствует материалы или отдельные результаты. Использование заимствованного материала (частей чужого текста, цитат, таблиц, формул, графиков и т.п.) без ссылки на автора и источник заимствования квалифицируется как плагиат со всеми вытекающими отсюда последствиями. Плагиат служит безусловным основанием для отказа в публикации статьи.

4. К статье должна быть приложена **аннотация** на русском языке, объемом не менее 150–250 слов, отражающая основное содержание работы, с указанием названия статьи, фамилий всех авторов, **ключевых слов** к статье (до

15). Ключевые слова должны быть написаны через точку с запятой, что облегчает классификацию работы в компьютерных поисковых системах. Аннотация является основным источником информации в отечественных и зарубежных информационных системах и базах данных, индексирующих журнал. Необходимо помнить, что информация, чтобы попасть в зарубежную базу данных, должна быть понятна и интересна, в первую очередь, зарубежному медицинскому сообществу, которое, не зная русского языка, могло бы без обращения к полному тексту получить наиболее полное представление о тематике и уровне публикуемых исследований российских ученых. Поэтому аннотация должна быть информативной (не содержать общих слов), содержательной (отражать основное содержание статьи), структурированной (следовать логике описания результатов в статье).

Одним из проверенных вариантов аннотации является краткое повторение в ней структуры статьи, включающей *введение, цели и задачи, методы, результаты, заключение*. Предмет, тема, цель работы указываются в том случае, если они не ясны из заглавия статьи. Метод или методологию проведения работы в аннотации целесообразно описывать в том случае, если они отличаются новизной или представляют интерес с точки зрения данной работы. Результаты работы описывают предельно точно и информативно. Приводятся основные теоретические и экспериментальные результаты, фактические данные, обнаруженные взаимосвязи и закономерности. При этом отдается предпочтение новым результатам и данным долгосрочного значения, важным открытиям, выводам, которые опровергают существующие теории, а также данным, которые, по мнению автора, имеют практическое значение. Выводы могут сопровождаться рекомендациями, оценками, предложениями, гипотезами, описанными в статье.

Сведения, содержащиеся в названии статьи, не должны повторяться в тексте реферата. Следует избегать лишних вводных фраз (например, «автор статьи рассматривает...», «общеизвестно...»). Исторические справки, если они не составляют основное содержание документа, описание ранее опубликованных работ и общеизвестные положения в аннотации не приводятся.

В тексте аннотации следует употреблять синтаксические конструкции, свойственные языку научных и технических документов, избегать сложных грамматических конструкций (не применимых в научном английском языке). В качестве помощи для написания аннотаций можно использовать ГОСТ 7.9–95 «Реферат и аннотация. Общие требования».

Аннотация на английском языке на статью на русском языке по объему может быть больше аннотации на русском языке, так как за ней не идет полный текст на этом же языке. В переводе аннотаций и ключевых слов на английский язык не должно быть транслитераций с русского языка, кроме непереводаемых названий собственных имен, приборов и других объектов, имеющих собственные названия; также не должен использоваться непереводаемый сленг, известный только русскоговорящим специалистам. Должна применяться англоязычная специальная терминология. Следует избегать употребления терминов, являющихся прямой калькой русскоязычных терминов. Необходимо соблюдать единство терминологии в пределах реферата. Текст должен быть связным с использованием слов «следовательно», «более того», «например», «в результате» и т.д. («consequently», «moreover», «for

example», «the benefits of this study», «as a result» etc.), либо разрозненные излагаемые положения должны логично вытекать один из другого. Необходимо использовать активный, а не пассивный залог, т.е. «The study tested», но не «It was tested in this study» (частая ошибка российских аннотаций);

Стиль письма должен быть компактным (плотным), поэтому предложения, вероятнее всего, будут длиннее, чем обычно. Примеры, как не надо писать реферат на английском языке, приведены на сайте британского издательства Emerald (<http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=3&>). На сайте издательства также приведены примеры качественных рефератов для различных типов статей (обзоры, научные статьи, концептуальные статьи, практические статьи — <http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=2&PHPSESSID=hdac5rtkb73ae013ofk4g8nrv1>).

Статью может сопровождать *словарь терминов* (неясных, способных вызвать у читателя затруднения при прочтении); словарь размещается в конце статьи перед списком литературы.

5. *Таблицы* помещают в конце статьи, каждая на отдельной странице. Таблицы должны иметь номер и заголовок. Номер таблицы ставится слева от заголовка. Таблицы необходимо формировать, используя опцию Word «таблица» без абзаца в графе. Сокращения слов в таблицах не допускаются. Все цифры в таблицах должны соответствовать цифрам в тексте. В тексте статьи необходимо привести ссылку на таблицу.

Таблицы должны быть компактными, иметь порядковый номер; графы, колонки должны быть выверены логически и графически. Материал таблиц (как и рисунков) должен быть понятным и не дублировать текст статьи. Цифровой материал таблиц должен быть обработан статистически.

Графики необходимо представлять в программе Microsoft Excel с цифровыми данными. Каждый график в отдельном файле.

6. *Математические формулы и уравнения* следует выделять из текста в отдельную строку. Выше и ниже каждой формулы и уравнения должно быть оставлено не менее одной свободной строки. Если уравнение не умещается в одну строку, то оно должно быть перенесено после знака равенства (=) или после знаков плюс (+) или минус (–), умножения (×) или деления (÷) или других математических знаков, причем знак в начале следующей строчки повторяют. При переносе формулы на знаке, символизирующей операцию умножения, используют знак «×».

Пояснение значений символов и числовых коэффициентов следует приводить непосредственно под формулой (уравнением) в той же последовательности, в которой они даны в формуле (уравнении). Формулы и уравнения в статье нумеруются порядковой нумерацией в пределах всей статьи арабскими цифрами в круглых скобках и крайнем правом положении на строке.

Пример

$$A = \frac{B}{C}, \quad (1)$$

$$D = \frac{C}{E}. \quad (2)$$

$$A = a:b, \quad (3)$$

$$D = c:e \quad (4)$$

Одну формулу (уравнение) обозначают — (1). Ссылки в тексте на порядковые номера формул и уравнений дают в скобках арабскими цифрами.

7. **Рисунки и фотографии** должны быть содержательными. Они могут быть черно-белыми и цветными. Количество обозначений на рисунке или фотографии необходимо свести к минимуму, все объяснения следует давать в подрисуночной подписи. На обороте рисунка (фотографии) карандашом проставляются его номер, фамилия автора и название статьи, обозначается верх и низ. Подписи к рисункам (фотографиям) печатаются на отдельной странице. Сначала дается общая подпись к рисунку (фотографии), а затем — расшифровка цифровых или буквенных обозначений. В подписях к микрофотографиям указываются увеличение, метод окрашивания. Электронные варианты рисунков и фотографий должны быть размером не менее чем 9–12 см, 300 точек на дюйм, формат tif, цветовая платформа CMYK. Обязательно наличие распечатки рисунка, представленного в электронном виде. Необходимо, чтобы все таблицы/рисунки, приложенные к тексту статьи, были упомянуты в тексте.

8. **Цитаты**, приводимые в статьях, должны быть верны и на полях подписаны автором. В сноске обязательно должно быть указание на источник (его наименование, издание, год, том или выпуск, страница).

9. **Библиографические ссылки** в тексте должны даваться номерами в квадратных скобках в порядке их цитирования. При цитировании источников следует отражать работы не только российских, но и зарубежных коллег. Следует избегать ложного цитирования. Редакция оставляет за собой право выборочно проверять соответствие ссылок цитируемым сведениям. В случае обнаружения ложного цитирования статья не публикуется.

10. Правильное описание **используемых источников** в списках литературы является залогом того, что цитируемая публикация будет учтена Российским индексом научного цитирования (РИНЦ) и международными базами цитирования при оценке научной деятельности ее авторов и организаций, где они работают.

Ссылки на неопубликованные работы не допускаются. В ссылках на статьи, принятые в печать, но еще неопубликованные, нужно указать: «в печати». При этом авторы должны получить письменное разрешение на упоминание таких статей и подтверждение, что они действительно приняты к публикации. Информация из рукописей, представленных, но еще не принятых в печать, должна обозначаться в тексте как «неопубликованные наблюдения» (обязательно наличие согласия автора).

Библиография статьи должна содержать, помимо основополагающих работ, публикации за последние 5 лет. В списке литературы все работы перечисляются в порядке их цитирования.

Библиографические списки составляются с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals). Эти правила используются Национальной медицинской библиотекой США (National Library of Medicine США, NLM; <https://www.nlm.nih.gov/>).

Библиографическое описание **книги**: автор(ы), точка, название, точка, город (место издания), двоеточие, название издательства, точка с запятой, год издания. Если ссылка дается на главу книги: (авторы); название главы; после точки ставится «В кн.:» или «In:» и фамилия(и) авто-

ра(ов) или редактора(ов), затем название книги и выходные данные.

Библиографическое описание **статьи** из журнала: автор(ы), точка, название статьи, точка, название журнала, год, точка с запятой; номер тома издания, в скобках номер журнала, двоеточие, цифры первой и последней страниц.

Названия отечественных журналов следует давать полностью. Исключение составляют журналы, чьи названия зафиксированы в Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov>) и других аналогичных изданиях.

При авторском коллективе до 6 человек включительно упоминаются все авторы, при больших авторских коллективах 6 первых авторов «и др.», в иностранных «et al.». Если в качестве авторов книг выступают редакторы, после фамилии следует ставить «ред.», в иностранных «eds.» или «ed.», если редактор один. ФИО авторов оформляется прямым шрифтом.

Для учета требований таких международных систем цитирования как Web of Science и Scopus, библиографические списки входят в англоязычный блок статьи и, соответственно, должны даваться не только на языке оригинала, но и в латинице (романским алфавитом). Поэтому список литературы должен быть представлен в двух вариантах: один на языке оригинала (русскоязычные источники кириллицей, англоязычные — в романском алфавите), как было принято ранее (**Литература**); и отдельным блоком тот же список литературы (**References**) — в романском алфавите для Scopus и других международных баз данных, повторяя в нем все источники литературы, независимо от того, имеются ли среди них иностранные. Если в списке есть ссылки на иностранные публикации, они полностью повторяются в списке, готовящемся в романском алфавите.

Фамилии авторов публикаций, на которые делаются ссылки (если они не транслитерированы) рекомендуется транслитерировать по системе BGN (Board of Geographic Names), см. сайт <http://www.translit.ru>.

В переводе заглавий статей на английский язык не должно быть транслитераций с русского языка, кроме непередаваемых названий собственных имен, приборов и др. объектов, имеющих собственные названия; также не используется непередаваемый сленг, известный только русскоговорящим специалистам.

В романском алфавите для русскоязычных источников требуется следующая структура библиографической ссылки: автор(ы) (транслитерация), перевод названия книги или статьи на английский язык, название источника (транслитерация), выходные данные в цифровом формате, указание на язык статьи в круглых скобках (in Russian).

Ниже приведены примеры оформления ссылок на источники литературы на русском языке и примеры транслитерации источников литературы на русском языке и для англоязычного блока статьи (использованы материалы из правил для авторов, принятых в журнале «Здравоохранение Российской Федерации»):

Примеры оформления ссылок на литературу на русском языке:

Журнальные статьи:

Веркина ЛМ, Телесманич НР, Мишин ДВ, Ботииков АГ, Ломов ЮМ, Дерябин ПГ и др. Конструирование полимерного препарата для серологической диагностики гепатита С. Вопросы вирусологии 2012; (1): 45–8.

Чучалин АГ. Грипп: уроки пандемии (клинические аспекты). Пульмонология 2010; Прил. 1: 3–8.

Glauser TA. Integrating clinical trial data into clinical practice. *Neurology* 2002; **58**(12, Suppl. 7): S6–12.

McInnes D, Bollen J. Learning on the job: metaphors of choreography and the practice of sex in sex-on-premises venues. *Venereology* 2000; **13**(1): 27–36.

Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S, Benninghoff U, Cassani B, Callegaro L et al. Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med*. 2009; **360**(5): 447–58.

Книги:

Медик ВА. Заболеваемость населения: история, современное состояние и методология изучения. М.: Медицина; 2003.

Beck S, Klobes F, Scherrer C. Surviving globalization? Perspective for the German economic model. Berlin: Springer; 2005.

Воробьев АИ, ред. Руководство по гематологии. 3-е изд. Т. 3. М.: Ньюдиамед; 2005.

Радзинский ВЕ, ред. Перионеология: Учебное пособие. М.: РУДН; 2008.

Michelson AD, ed. Platelets. 2nd ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2007.

Mestecky J, Lamm ME, Strober W, eds. Mucosal immunology. 3rd ed. New York: Academic Press; 2005.

Главы в книге:

Иванова АЕ. Тенденции и причины смерти населения России. В кн.: Осипов ВГ, Рыбаковский ЛЛ, ред. Демографическое развитие России в XXI веке. М.: Экон-Информ; 2009. С. 110–31.

Silver RM, Peltier MR, Branch DW. The immunology of pregnancy. In: Creasey RK, Resnik R, eds. Maternal-fetal medicine: Principles and practices. 5th ed. Philadelphia: WB. Saunders; 2004. P. 89–109.

Speroff L, Fritz MA. Clinical gynaecologic endocrinology and infertility. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005. Chapter 29, Endometriosis; p. 1103–33.

Материалы научных конференций:

Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: Материалы научно-практической конференции. 8 июля 2009 г. Санкт-Петербург. СПб; 2009.

Салов ИА, Маринушкин ДН. Акушерская тактика при внутриутробной гибели плода. В кн.: Материалы IV Российского форума «Мать и дитя». М.; 2000; ч. 1. С. 516–9.

European meeting on hypertension. Milan, June 15–19, 2007. Milan; 2007.

Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editors. Germ cell tumours V: Proceedings of the 5th Germ cell tumour conference. 2001, Sept. 13–15; Leeds; UK. New York: Springer; 2001.

Диссертация и автореферат:

Сабгайда ТП. Паразитарная система *P. vivax*: информационно-математическое моделирование как основа анализа и управления ее функционированием: дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2002.

Подсвинова ОВ. Оптимизация методических и медико-организационных аспектов управления факторами, определяющими качество перинатальной профилактики: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иваново; 2004.

Описание патента:

Большаков МВ, Кулаков АВ, Лавренев АН, Палкин МВ. Способ ориентирования по крену летательного аппарата с оптической головкой самонаведения. Патент Российской Федерации, № 2280590; 2006.

Электронные источники:

О состоянии здоровья населения Республики Коми в 2009 году: государственный доклад [Интернет]. 2009 [cited 2013 Jan 23]. Available from: <http://www.minzdrav.rko-mi.ru/left/doc/docminzdr>.

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial online] 2002 [cited 2012 Dec 17]; 102(6). Available from: <http://www.psvedu.ru/journal/2011/4/2560.phtml>.

Bartlett A. Breastwork: Rethinking breastfeeding [monograph online]. Sydney, NSW: University of New South Wales Press; 2005 [cited 2009 Nov 10]. Available from: NetLibrary.

Darwin C. On the Origin of Species by means of natural selection or the preservation of favoured races in the struggle for life [internet]. London: John Murray; 1859. Chapter 5, Laws of Variation. [cited 2010 Apr 22]. Available from: <http://www.talkorigins.org/faqs/origin/chapter5.html>.

Fletcher D, Wagstaff CRD. Organisational psychology in elite sport: its emergence, application and future. *Psychol Sport Exerc*. 2009; 10(4):427–34. doi:10.1016/j.psychsport.2009.03.009.

Lemanek K. Adherence issues in the medical management of asthma. *J Pediatr Psychol* [Internet]. 1990 [cited 2010 Apr 22]; 15(4):437–58. Available from: <http://jpepsy.oxfordjournals.org/cgi/reprint/15/4/437>.

Примеры транслитерации русскоязычных источников литературы для англоязычного блока статьи:

Описание статьи из журнала:

Belushkina NN, Khomyakova TN, Khomyakov YuN. Diseases associated with dysregulation of programmed cell death. *Molekulyarnaya meditsina* 2012; 2: 3–10 (in Russian).

Starodubov VI, Tsybul'skaya IS, Sukhanova LP. Maternal and child's health protection as a priority problem of the present-day Russia. *Sovremennyye meditsinskiye tekhnologii* 2009; (2): 11–6 (in Russian).

Описание статьи из электронного журнала:

Martynchik SA, Filatenkova SV. System of indicators for efficiency of out-patient polyclinic settings activity. *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya* [serial online]. 2009 [cited 2013 Feb 11]; 12 (4). Available from: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/161/30/lang, ru/> (in Russian).

Описание книги (монографии, сборника):

Kanevskaya RD. Mathematical modeling of hydrodynamic processes of hydrocarbon deposit development. *Izhevsk*; 2002 (in Russian).

From disaster to rebirth: the causes and consequences of the destruction of the Soviet Union. Moscow: HSE Publ; 1999 (in Russian).

Latyshev VN. Tribology of cutting. Vol. 1: Frictional processes in metal cutting. Ivanovo: Ivanovskiy Gos. Univ.; 2009 (in Russian).

Описание материалов конференций:

Usmanov TS, Gusmanov AA, Mullagalin IZ, Muhametshina RJu, Chervyakova AN, Sveshnikov AV. Features of the design of field development with the use of hydraulic fracturing. In: New energy saving subsoil technologies and the increasing of the oil and gas impact: Proc. 6th Int. Symp. Moscow, 2007. P. 267–72 (in Russian).

Описание Интернет-ресурса:

APA Style [Internet]. 2011 [cited 2013 Feb 12]. Available from: <http://www.apastyle.org/apastyle-help.aspx>

Описание диссертации и автореферата:

Sabgayda TP The parasitic system *P. vivax*: information and mathematical modeling as a basis of analysis and management

of its functioning. Dr. Med. Sci. [dissertation]. Moscow; 2002 (in Russian).

Alekseyeva YeG. Social and health study of the balance between the doctor's and pregnant woman's roles in perinatal pathology prevention and ways for increasing its efficiency. Cand. Med. Sci. [thesis]. Moscow; 2011 (in Russian).

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans. PhD [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

Описание ГОСТа:

State Standard 8.586.5–2005. Method of measurement. Measurement of flow rate and volume of liquids and gases by means of orifice devices. Moscow: Standartinform Publ., 2007 (in Russian).

Описание патента:

Bol'shakov MV, Kulakov AV, Lavrenov AN, Palkin MV. The way to orient on the roll of aircraft with optical homing head. Patent RF, N 2280590; 2006 (in Russian).

Автор должен тщательно проверить правильность библиографических данных. Количество ссылок, приведенных в тексте статьи и списке литературы, должно совпадать.

11. Статья должна быть тщательным образом выверена, отредактирована. Печатный вариант должен быть подписан всеми авторами. Указываются фамилия, имя, отчество, место работы, телефон, почтовый и электронный адреса автора, с которым редакция будет вести переписку.

12. Подпись автора(ов) под статьей, переданной в редакцию, подразумевает, что он(и) передает(ют) журналу право на издание, гарантирует ее оригинальность, и подтверждает, что она не передана одновременно в другое издание.

13. Все статьи и другие материалы, публикуемые в журнале, проходят обязательное рецензирование двумя рецензентами с целью их экспертной оценки. Привлекаемые рецензенты являются признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и имеют в течение последних 3 лет публикации по тематике рецензируемой статьи. В основном к рецензированию привлекаются специалисты из сторонних организаций. Рецензии постоянно хранятся в редакции журнала. Порядок рецензирования статей, поступивших для публикации в «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение», размещен ниже.

14. Редакция оставляет за собой право сокращать принятые работы без изменения их смысла. Статьи, отправленные авторам для исправления, должны быть возвращены в редакцию не позднее, чем через две недели после получения. Если статья возвращена в более поздний срок, то сроки ее опубликования могут быть отодвинуты.

15. Неправильно оформленные статьи возвращаются авторам.

16. Плата за публикацию рукописей не взимается.

17. Редакция просит авторов не включать рекламные материалы в тексты статей. В случае обнаружения скрытой рекламы статья не будет опубликована.

Печатный вариант статьи и сопроводительные документы следует направлять по адресу:

127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, редакция журнала «Биопрепараты».

Электронный вариант статьи представляется на диске (CD-диске) или по электронной почте на адрес: biopreparaty@expmed.ru.

Порядок рецензирования статей в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение»

1. Автор статьи представляет в редакцию рукопись, оформленную в соответствии с Правилами направления, рецензирования и опубликования научных статей в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение».

2. Поступившую рукопись регистрируют в специальном журнале в день получения редакцией ее бумажной копии (дата регистрации) и ей присваивается идентификационный номер, где первая цифра означает номер по порядку в текущем году, вторая — год поступления. Например, статья под № 23-16 означает, что она поступила 23-й по счету в 2016 г. На статью заводится учетная карточка, отражающая ход рассмотрения статьи в редакции и содержащая окончательный вывод главного редактора (заместителя главного редактора) о возможности опубликования.

3. Все научные статьи подлежат обязательному рецензированию.

4. Главный редактор (заместитель главного редактора) в течение двух недель определяет соответствие статьи профилю журнала, и направляет ее на рецензирование специалисту. Привлекаемые рецензенты должны быть признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и иметь в течение последних трех лет публикации по тематике рецензируемой статьи. Предпочтительно привлечение к рецензированию специалистов из сторонних организаций. Рецензии постоянно хранятся в редакции журнала. Рецензент не должен иметь конфликта интересов ни с одним из авторов статьи. Рецензенту ответственным секретарем редакции (научным редактором) направляется уведомление (приложение 1), в котором указывается название статьи и срок представление рецензии, а также типовая форма рецензии (приложение 2).

5. Срок рецензирования — три недели. При необходимости повторное рецензирование проводится в такие же сроки. В случае принятия к опубликованию или отклонения рукописи, автору высылаются мотивированное заключение с приложением рецензий, не указывая авторства.

6. В рецензии даются ответы на вопросы, изложенные в типовой форме рецензии (приложение 2). Замечания и пожелания рецензента должны быть объективными и принципиальными, направленными на повышение научно-методического уровня рукописи.

7. В заключительной части рецензии должны содержаться обоснованные выводы о рукописи в целом и одно из следующих решений:

- рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение»;
- рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» с внесением технической правки без повторного рецензирования статьи;
- рекомендовать направить на повторное рецензирование тому же рецензенту после устранения автором замечаний рецензента, с последующим принятием рукописи к публикации в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение»;

- рекомендовать отказать в публикации статьи в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение».

8. В случае двух отрицательных рецензий статья направляется на дополнительное рецензирование другому рецензенту решением главного редактора (его заместителя) или по рекомендации редколлегии журнала.

9. Статья, принятая к публикации, но нуждающаяся в доработке, направляется автору с соответствующими замечаниями рецензентов и (или) главного редактора. Автор обязан реализовать замечания и вернуть в редакцию исправленный вариант рукописи (по электронной почте) не позднее, чем через две недели со дня ее получения. Возвращение статьи в неуставленные сроки сдвигает дату ее опубликования.

10. Редакция журнала представляет рецензии на рукописи по запросам соответствующего экспертного совета ВАК.

11. Рецензентам не разрешается передавать рукописи на рецензирование другим лицам без согласования с главным редактором (заместителем главного редактора).

12. В случае несогласия с мнением рецензента, автор статьи имеет право обратиться в редакцию журнала с аргументированной просьбой, в письменном виде, о направлении его рукописи на рецензирование другому рецензенту с приведением в обращении соответствующих аргументов. В этом случае редакционная коллегия журнала направляет рукопись на повторное (дополнительное) рецензирование, либо предоставляет автору новый мотивированный отказ. Окончательное решение принимает главный редактор журнала.

13. Статьи и рецензии на статьи обсуждаются на редколлегии журнала, проводимые за месяц до сдачи журнала в печать. На основании этого обсуждения ответственным секретарем комплектуется очередной выпуск журнала. Редколлегия может рекомендовать главному редактору (его заместителю) направить статью на дополнительное рецензирование при возникновении сомнений у членов редколлегии в целесообразности ее опубликования в журнале или при наличии отрицательной рецензии на статью.

14. Окончательное решение о целесообразности и сроках публикации статьи после рецензирования принимает главный редактор (заместитель главного редактора) журнала.

15. Рукописи автору не возвращаются.

16. Оригиналы рецензий и рукописей хранятся в редакции журнала в течение трех лет с момента их получения.

Приложение 1

Уведомление редакции журнала «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение»

Уважаемый _____!

Направляем Вам на рецензирование статью _____.

Просим дать рецензию не позднее _____ 20__ г.

Ответственный секретарь редакции

В. И. Климов

_____ 20__ г.

Приложение 2

Типовая форма рецензии

Название статьи	
Соответствует ли содержание представляемой в редакцию статьи тематике журнала?	
Соответствует ли название статьи ее содержанию?	
Сформулированы ли четко актуальность, цель и задачи исследования?	
Способствует ли достижению цели представленная совокупность задач?	
Содержит ли раздел «Материалы и методы» сведения о методах исследования, достаточные для их воспроизведения?	
Правильно ли применены методы статистического анализа и интерпретированы их результаты?	
Разъяснены ли в тексте статьи при первом упоминании аббревиатуры и другие условные буквенные сокращения?	
Отражено ли в выводах достижение цели исследования?	
Все ли выводы основываются на приведенных в статье данных?	
Отражает ли аннотация основное содержание работы и полученные результаты?	
Адекватно ли подобраны ключевые слова, достаточно ли их количество?	
Соответствуют ли библиографические описания цитируемой литературы современному состоянию проблемы, рассматриваемой автором?	
Соответствует ли статья современным достижениям в той области знания, к которой она относится?	
Доступна ли статья читателям, на которых она рассчитана, с точки зрения языка, стиля, расположения материала, наглядности таблиц, диаграмм, рисунков и формул?	
Есть ли признаки плагиата — заимствования частей чужого текста, цитат, таблиц, формул, графиков и т.п. без ссылки на автора и первоисточники?	
Целесообразна ли публикация статьи с учетом ранее выпущенной по данному вопросу литературы?	
В чем конкретно заключаются положительные стороны, а также недостатки статьи, какие исправления и дополнения должны быть внесены автором?	
Содержатся ли в статье сведения рекламного характера?	
В чем заключается научный вклад данной статьи в ту область знания, к которой она относится	
Выводы о рукописи в целом: (см. п. 7 «Порядка рецензирования статей в журнале «Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение»)	

Полные сведения о рецензенте: Фамилия, имя, отчество полностью, ученая степень и звание, должность, сведения об учреждении (название с указанием ведомственной принадлежности), адрес, с почтовым индексом, номер телефона и факса с кодом города.

Дата _____ Подпись _____



Людмила Федоровна Шимчук
(к 70-летию со дня рождения)

Lyudmila Fedorovna Shimchuk
(on the 70th anniversary)

28 декабря 2015 года исполнилось 70 лет начальнику лаборатории организации испытаний МИБП Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России кандидату биологических наук Людмиле Федоровне Шимчук.

В 1964 году, будучи студенткой МГУ им. М. В. Ломоносова, Людмила Федоровна пришла в Государственный институт стандартизации и контроля им. Л. А. Тарасевича и начала работать там препаратом, а затем лаборантом.

В 1971 году по окончании учебы в университете Людмила Федоровна была назначена на должность младшего научного сотрудника лаборатории стандартизации и контроля бактериальных вакцин, ставшего ей уже родным ГИСК им. Л. А. Тарасевича.

В 1984 году Л. Ф. Шимчук успешно защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему: «Стандартизация колибактеринов».

В 1987 году Л. Ф. Шимчук была назначена на должность старшего научного сотрудника лаборатории контроля и стандартизации анатоксинов и сывороточных препаратов. Одновременно Людмила Федоровна взяла на себя ответственность за музей анаэробных микроорганизмов.

С 1990 года Людмила Федоровна была переведена на должность Ученого секретаря института. На этой должности раскрылся талант Людмилы Федоровны как прекрасного организатора.

Л. Ф. Шимчук проработала на должности Ученого секретаря института два десятилетия. Она отвечала за работу с молодыми учеными, курировала аспирантов и соискателей, оказывала помощь в оформлении диссертаций. Под ее руководством на Ученых советах ГИСК им. Л. А. Тарасевича решались вопросы различной сложности по стандартизации медико-биологических препаратов.

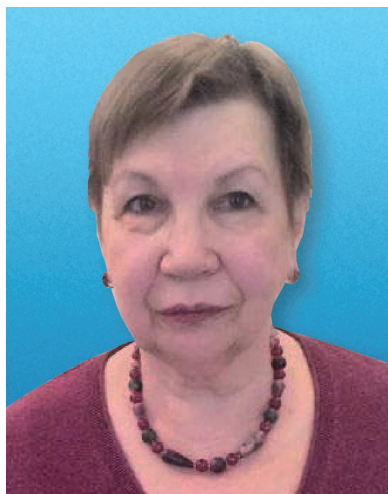
Одновременно с этой работой Людмила Федоровна занималась сертификацией МИБП.

В апреле 2011 года в связи с реорганизацией ГИСК им. Л. А. Тарасевича в форме присоединения к ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России была создана лаборатория организации испытаний МИБП Испытательного центра экспертизы качества МИБП. Людмила Федоровна с первых дней возглавила эту лабораторию. Это назначение, безусловно, стало признанием ее организаторских способностей, скрупулезности и оперативности мышления.

Несмотря на все трудности, Людмила Федоровна всегда интеллигентна, доброжелательна. Даже в самых сложных ситуациях, она умеет правильно оценить и понять проблему и найти оптимальное решение.

Людмила Федоровна является соавтором более 150 научных публикаций.

Л. Ф. Шимчук награждена медалью «В память 850-летия Москвы».



Ольга Викторовна Перелыгина
(к 70-летию со дня рождения)

Olga Viktorovna Perelygina
(on the 70th anniversary)

3 февраля 2016 года исполнилось 70 лет со дня рождения начальника лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России кандидата медицинских наук Ольги Викторовны Перелыгиной.

Ольга Викторовна родилась в Москве в 1946 г. В 1964 году поступила во Второй московский государственный медицинский институт им. Н. И. Пирогова на медико-биологический факультет (отделение биофизики). После окончания института поступила на должность старшего лаборанта в отдел радиологии (группа изотопной и клинической диагностики) Института экспериментальной и клинической онкологии АМН СССР.

С 1973 по 1978 гг. О. В. Перелыгина работала во втором московском государственном медицинском институте им. Н. И. Пирогова на кафедре фармакологии в должности старшего лаборанта, затем была переведена на должность младшего научного сотрудника в группу по изысканию иммунодепрессивных средств.

В 1978 г. она поступила в целевую аспирантуру Московского института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. В 1981 г. успешно закончила обучение в аспирантуре. В 1984 г. О. В. Перелыгина успешно защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на тему «Внутриголовная стафилококковая инфекция у мышей как модель для анализа антибактериальной резистентности и оценки протективной активности иммуноспецифических препаратов».

С 1981 по 1990 гг. О. В. Перелыгина трудилась в Московском институте вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова в должности младшего научного сотрудника в лаборатории иммунобиологических моделей, где ее работа была посвящена изучению препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием.

В 1990 г. Ольга Викторовна перешла на работу в ГИСК им. Л. А. Тарасевича на должность старшего научного сотрудника лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов, где включилась в работу лаборатории по контролю качества препаратов для борьбы с анаэробными инфекциями, стандартизации анатоксинов и антитоксических сывороток, разработку и калибровку национальных стандартных образцов, а также в коллаборативные испытания под эгидой ВОЗ. В 1996 г. О. В. Перелыгина возглавила лабораторию анатоксинов и антитоксических препаратов.

За годы работы Ольга Викторовна принимала участие в исследованиях по разработке и совершенствованию оценки эффективности, безопасности и методов контроля препаратов, курируемых лабораторией. Она принимала участие в совещаниях, проводимых ВОЗ, по гармонизации методов контроля АКДС-вакцины.

Ею опубликовано более 66 научных трудов, она имеет 3 патента на изобретения.

О. В. Перелыгина награждена знаком «Отличник здравоохранения», медалью «В память 850-летия Москвы».



Ирина Андреевна Алексеева
(к 65-летию со дня рождения)

Irina Andreevna Alekseeva
(on the 65th anniversary)

6 февраля 2016 года исполнилось 65 лет со дня рождения главного эксперта лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России Ирины Андреевны Алексеевой.

Ирина Андреевна родилась в Москве в 1951 г. В 1968 г. поступила в 1-й Московский медицинский институт им. И. М. Сеченова, по окончании которого получила специальность медико-санитарное дело. Во время учебы работала медсестрой в городской больнице № 71. После окончания института была принята на должность младшего научного сотрудника в Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова в лабораторию иммунобиологических моделей и методов.

В 1984 г. успешно защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на тему «Разработка радиоиммунологического метода оценки антител к белковому антигену менингококка группы А».

В 1987 г. И. А. Алексеева поступила на работу в ГИСК им. Л. А. Тарасевича в лабораторию бактериальных вакцин на должность старшего научного сотрудника.

В ГИСК им. Л. А. Тарасевича Ирина Андреевна посвятила себя изучению коклюшного микроба. С ее участием была разработана система измерения и оценки качества коклюшного компонента в АКДС-вакцине; усовершенствованы и стандартизованы методы и критерии оценки биологических свойств производственных штаммов коклюшных бактерий. Разработаны национальные образцы для оценки остаточной токсичности коклюшного компонента.

В апреле 2011 года в связи с реорганизацией ГИСК им. Л. А. Тарасевича в форме присоединения к ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России И. А. Алексеева была переведена в лабораторию анатоксинов и антитоксических препаратов на должность главного эксперта.

В 2015 г. Ирина Андреевна защитила диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

И. А. Алексеева опубликовала более 60 научных трудов, имеет два патента на изобретения, награждена знаком «Отличник здравоохранения», медалью «В память 850-летия Москвы».

